تحفيز المقاومة النباتية ضد الافات

تحفيز المقاومة النباتية ضد الافات

(لاللمبيدات)



الاستاذ الدكتور
أ.د.زيدان هندي عبد الحميد
أستاذ كيمياء المبيدات والسموم
كلية الزراعة - جامعة عين شمس

الناشر
كانزا جروب

تحفيز المقاومة النباتيه ضد الآفات

(لا للمبيدات)

إعداد : الأستاذ الدكتور

زيدان هندي عبد الحميد زيدان

أستاذ كيمياء المبيدات والسموم

كلية الزراعة - جامعة عين شمس

الناشر :

كاراجروب

١٦ شارع الفلاح برج الهدي - متفرع من شارع شهاب المهندسين جيزة -

جمهورية مصر العربية

ت .ف /٣٣٠٥٣٦٠٥-٣٣٠٥٣٦٠١-٣٣٠٥٣٦٠٢ (202)

الطبعة

الاولى ٢٠١٠

رقم الإيداع ١٦١٤٧ / ٢٠١٠

إهداء

الى والدي ووالدتى

(رحمة الله عليهما)

الى الزوجة العزيزة الفاضلة الزوجه التي شاركتني مر الحياة وحلوها

وكانت لى عونا كبيرا ... ولاسرتى خير راعيا

المرحومة بإذن الله تعالى

أ.د نجوي محمود محمد حسين

رئيس بحوث معهد بحوث وقاية النبات

مركز البحوث الزراعية - وزارة الزراعه

« اللهم يا حنان يا منان يا واسع الغفران اغفر لهم وارحمهم وعافهم واعفوا عنهم واكرم نزلهم ووسع مدخلهم واغسلهم بالماء والثلج والبرد ونقهم من الذنوب والخطايا كما ينقى الثوب الابيض من الدنس »

إهــــداء

إلــى أبنائــى الأعــزاء

عمرو زيدان - أيمن زيدان - خالد زيدان

أساتذى وزملائـى

بكلية الزراعه - جامعه عين شمس - الجامعات الأخرى

ومراكز البحوث والمعاهد البحثية


لماقدموه لـى من عـون صـادق

أحفـــادى

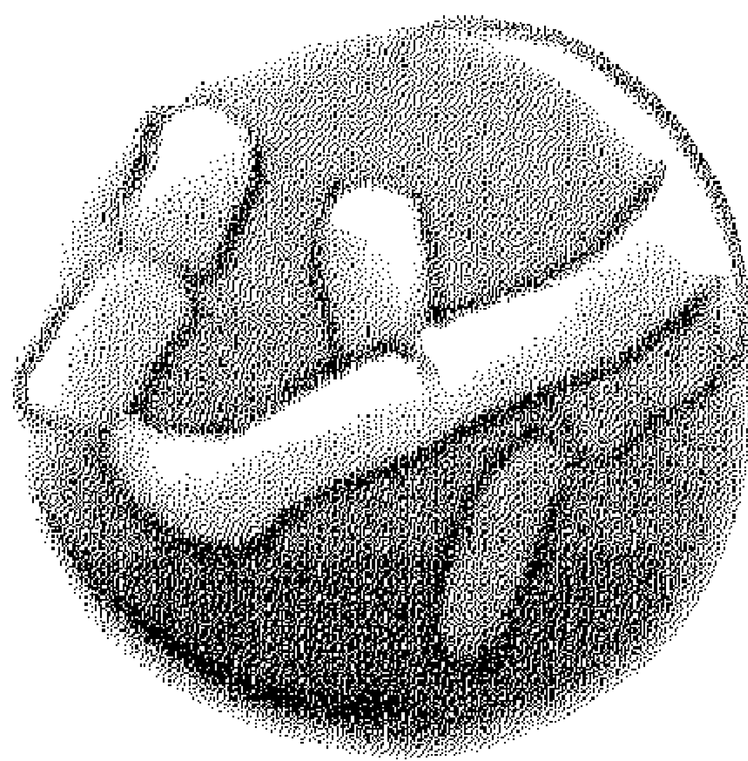
زيادعمـرو - زينة عمـرو

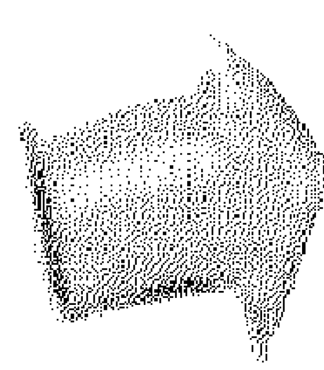
سلمى أيمن - سليم أيمن

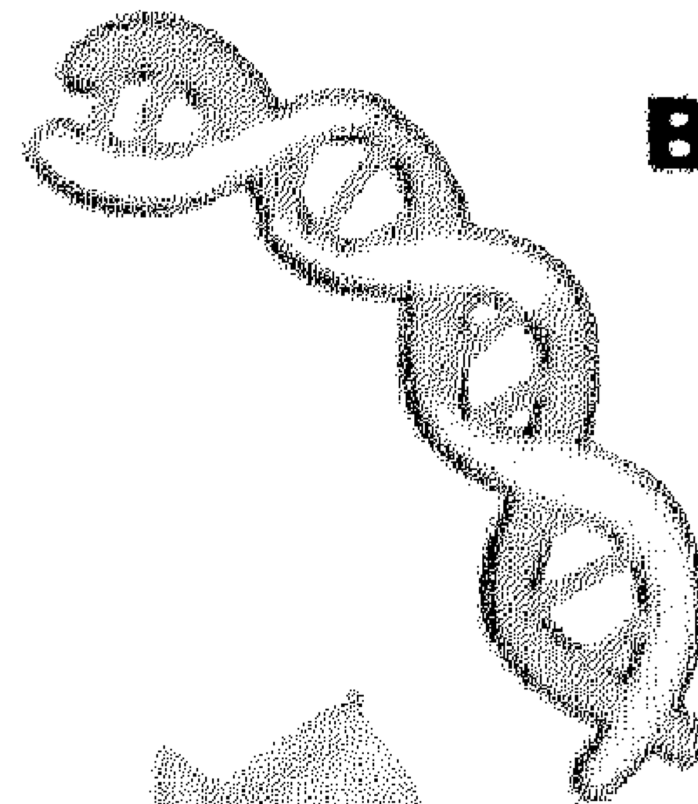
جمانة خالـد - مريم خالـد

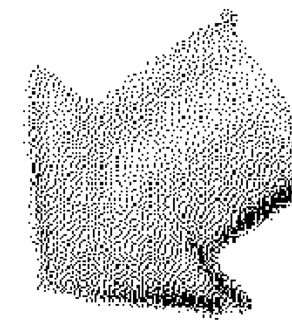


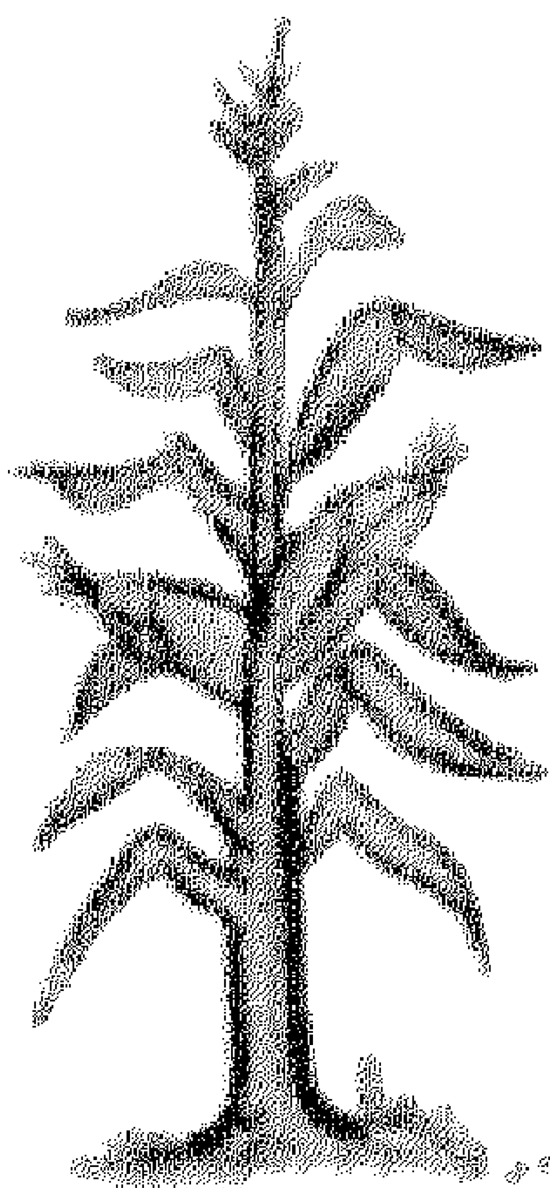


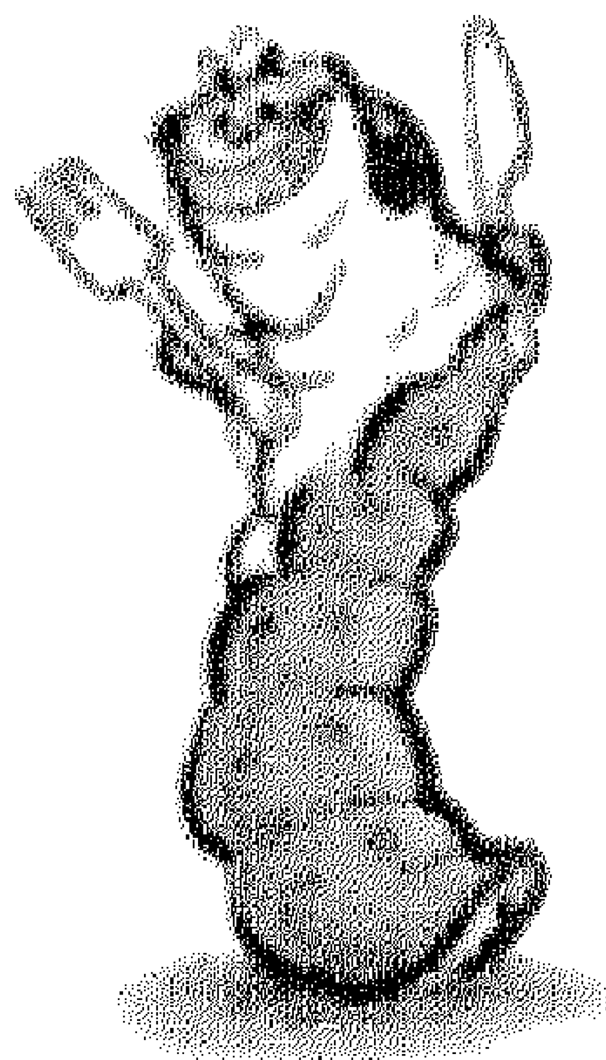

bacilius
thuninglensis

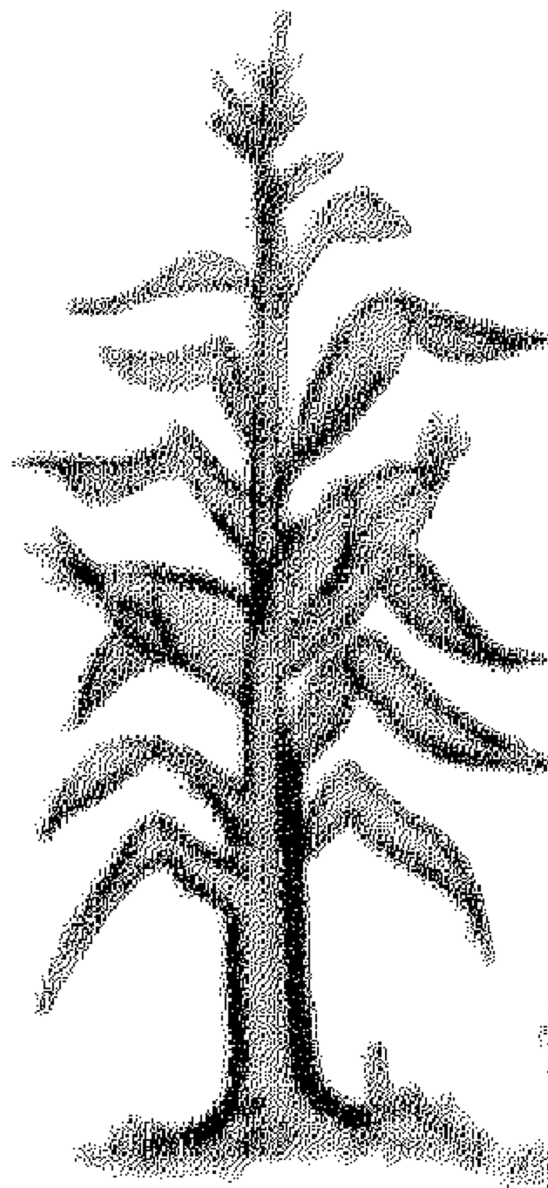


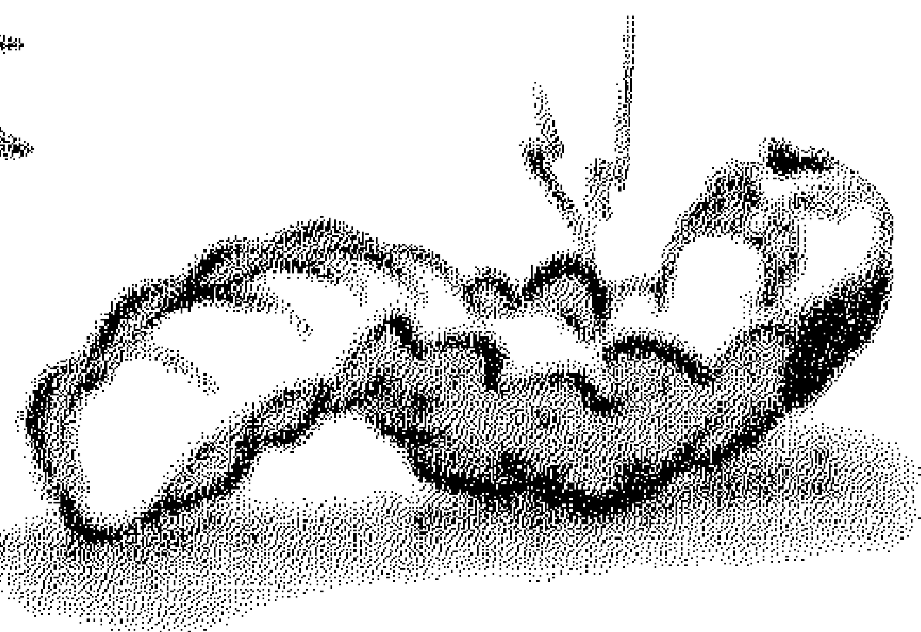

Bt Gene is
inserted
into crop



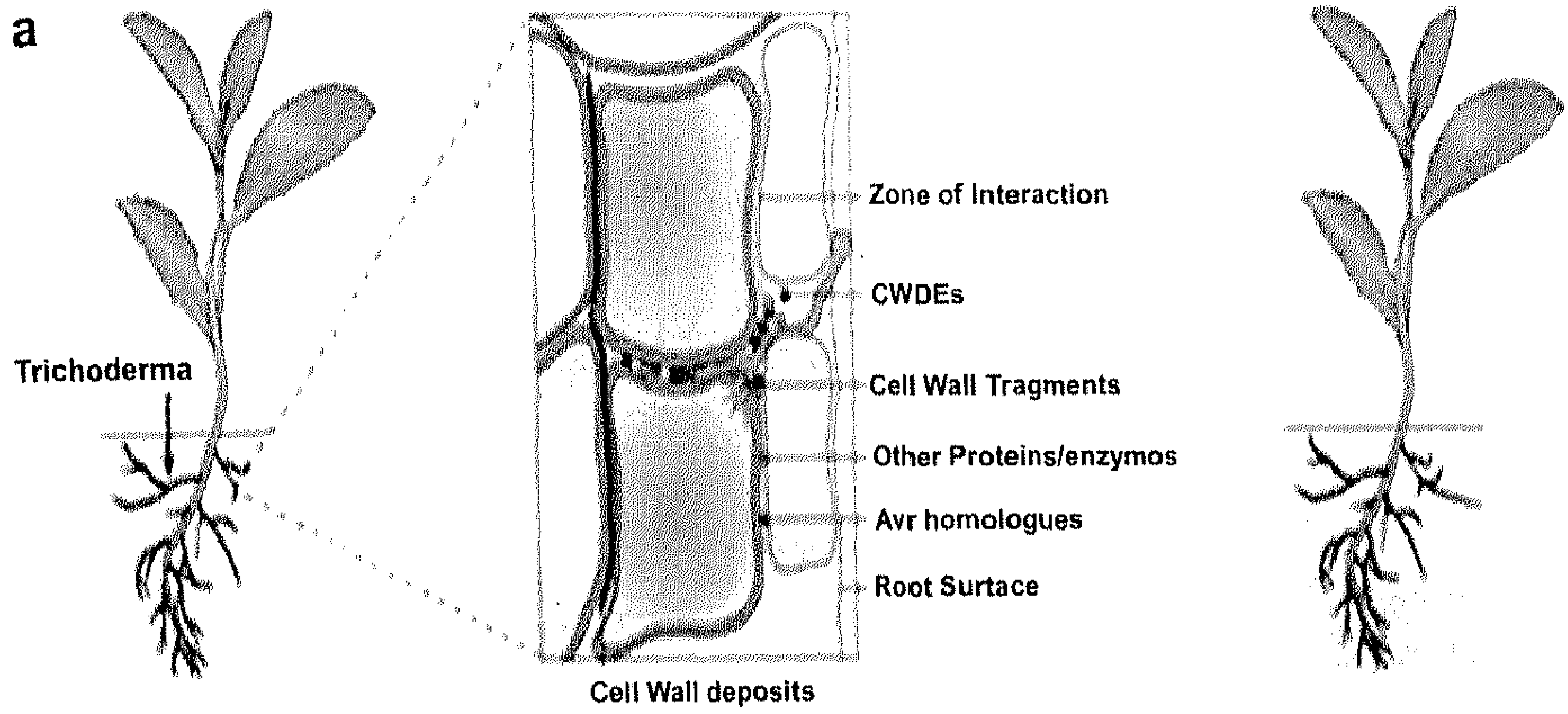


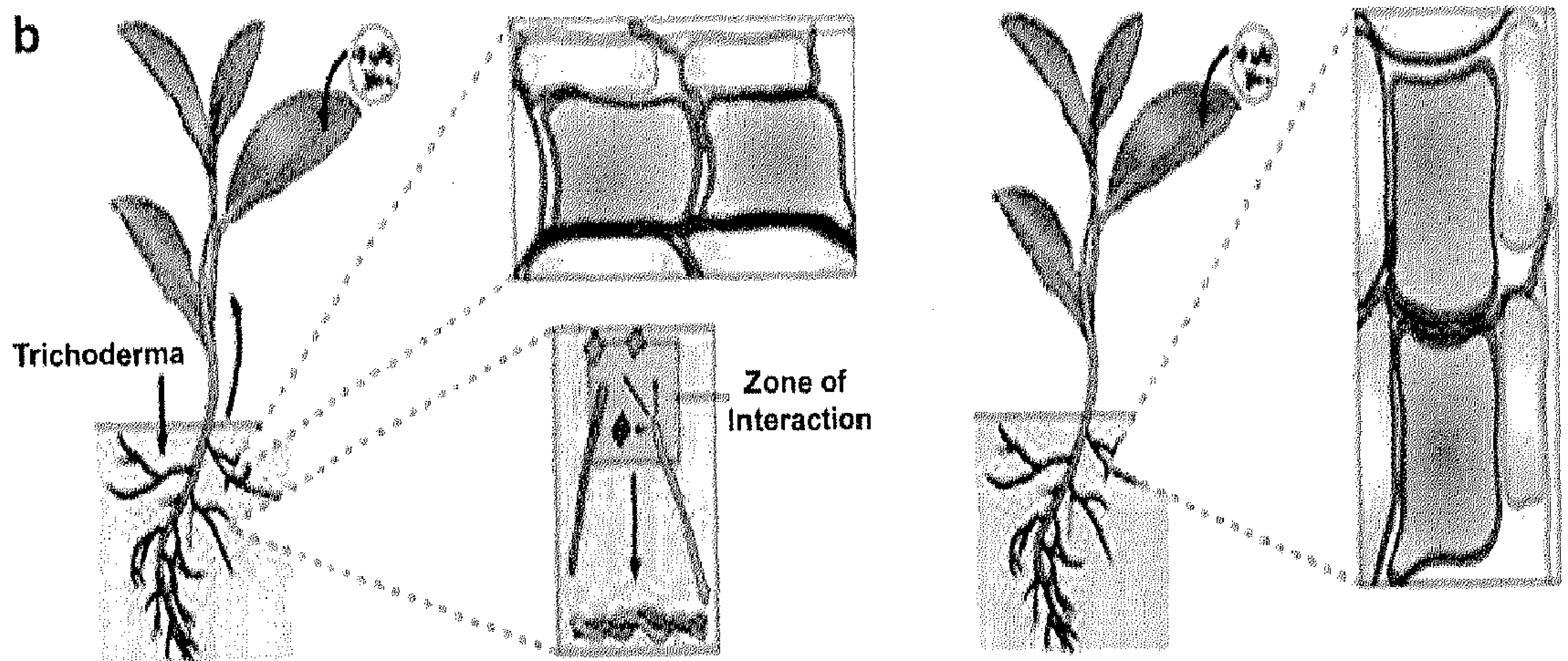

Crop is infected by
European com borer

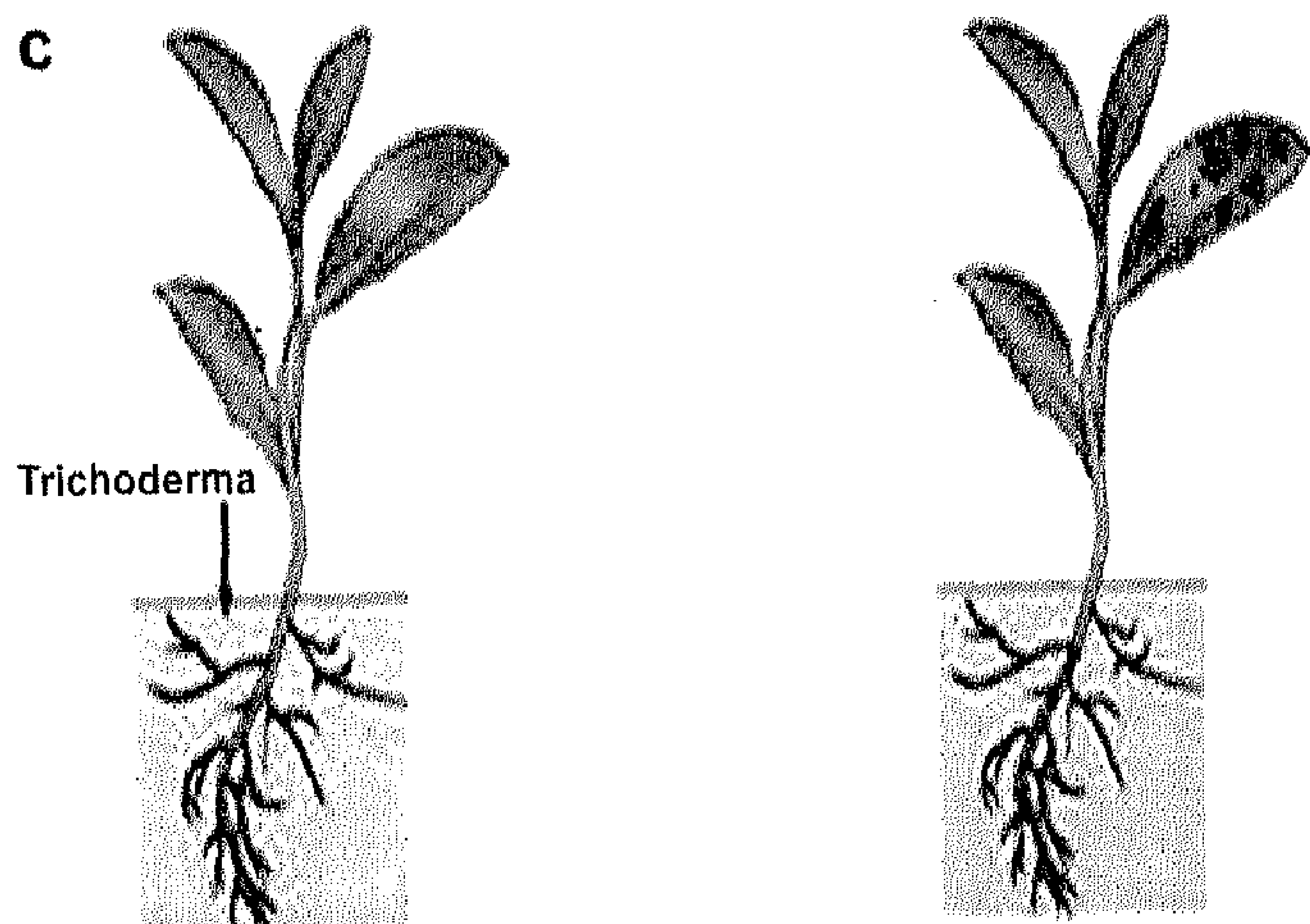



Pest dies when feeding on
any plant part

PeroxiBase


a
Trichoderma
Zone of Interaction
CWDEs
Cell Wall Tragments
Other Proteins/enzymos
Avr homologues
Root Surtace
Cell Wall deposits


b
Trichoderma
Zone of
Interaction


c
Trichoderma

المحتويات

تقديم ومقدمة الكتاب

بعد أن انتهيت من كتابي عن " غش المبيدات " وصل الإحباط واليأس في النفس والوجدان لأقصى درجة ممكنة من جراء الوقوف على ما يسود هذه التجارة من لا أخلاقيات وتدليس وعدم الشرعية والجرائم المتعمدة . لقد تأكد انتشار ظاهرة الغش في كل مكونات هذه السلعة الاستراتيجية الهامة والضرورية والتي لا يمكن الاستغناء عنها لمكافحة الآفات التي تضر بالإنتاج الزراعي وتضر بصحة الإنسان في مصر وفي جميع دول العالم المتقدم والنامي . للأسف الشديد فإن مصادر المبيدات المغشوشة غير المطابقة للمواصفات القياسية العالمية والمحلية معروفة للجميع خاصة الصين ومع هذا فإن مافيا الاتجار غير المشروع لهذه السلعة لا يعدمون الوسيلة في التحايل على جميع القوانين والتشريعات التي تحكم انتقال هذه البضاعة المعيوبة من مصادرها إلى الدول الأخرى عبر الجمارك في أماكن الوصول البحرية والجوية والبرية . ناهيك عن الغش المحلي للمبيدات المستوردة عن طريق تخفيف المحتوى من المادة الفعالة أو تغييرها كلياً بمادة أخرى أرخص وعديمة الفاعلية وقد لا تكون مبيد بالمرة أو تعبئة عبوات مزورة البطاقات الاستدلالية والمحتويات.

للأسف الشديد فإن المجابهة والتعدي لهذه الجريمة اللا أخلاقية معروفة للجميع ومع هذا فإن نجاحها مهما كانت الوسائل محدود للغاية بدليل زيادة التهريب والغش والتدليس . إلى الجانب الآخر فإن القرارات الرسمية غير المدروسة بعناية قد تتسبب في زيادة حجم الغش والتدليس كما حدث في مصر عندما أصدر وزير الزراعة قرار بإيقاف استخدام ما يزيد عن ١٥٠ مبيد مرة واحدة دون أن يكون لديه دراسة عن انعكاس وتبعات هذا القرار على سوق تجارة المبيدات في مصر بل وكان متفائلاً أكثر من اللازم عندما أعلن أن كل من يقوم بتسليم ما لديه من هذه المبيدات إلى وزارة الزراعة سوف يسترد قيمتها ... قلت لمعاليه أنت تحلم وسلوكيات تجار المبيدات بعيدة تماماً عما في ذهنك ومعاونيك .. أضفت أن السوق سوف يدمر من جراء الغش والتدليس وقد حدث ما توقعته ونبهت إليه : لقد قام كل تاجر عنده كمية من المبيد الممنوع بحجبه وغشه فأصبح الطن عشرة أطنان مغشوشة وارتفع سعره في الأسواق السوداء عشرة أضعاف وحقق الغشاشون مكاسب خرافية ولا يمكن عودتهم للصواب ...

لذلك قررت أن أتناول موضوعاً بعيد كل البعد عن المبيدات ألا وهو تعظيم وتحفيز مقاومة النباتات لفعل الأمراض النباتية لخطورتها والأضرار الضخمة التي تسببها للإنتاج الزراعي . لقد شجعني على ذلك اشتراكي في لجنة التحكيم الخاصة بتحفيز المقاومة

النباتية ضد مسببات الأمراض والحشرات فى محصول البطاطس من خلال مشروع ممول من أكاديمية البحث العلمى لمجموعة العمل بكلية الزراعية جامعة عين شمس . كذلك كان لى شرف مناقشة رسالة دكتوراة على نفس الموضوع للدكتور أحمد خميس من كلية الزراعة جامعة الإسكندرية . بالإضافة إلى ذلك وجدت فى المكتبة كتاب بعنوان :

" Induced resistance to diseases in Plants "

المنشور بواسطة :

" Raymond Hammerschmitt and Poseph Kull "

والناشر هو :

" Kluwer Academic publishers , P.O. Box 17 , 3300 AA Dordreck l. The Netherlands " .

وأرجو من الله سبحانه وتعالى أن يوفقنى لما فيه الخير والمنفعة لزملائى وتلامذتى فى مجال وقاية النبات.

أ.د. زيدان هندى عبد الحميد

الباب الأول

دور المقاومات الثلاثة :
المكتسبة – المستحثة – الحيوية فى أمراض النبات

مقدمة

عندما بدأت الكتابة فى هذا الموضوع الهام ألهمنى أحد الأساتذة الأصدقاء العظام المشهود له بالكفاءة فى كلية الزراعة جامعة عين شمس بقسم أمراض النبات الأخ الصديق أ.د. أحمد موسى بالاستعانة بأمهات الكتب عن تحفيز المقاومة النباتية ضد الآفات الضارة بل وأعطانى إياها على قرص مدمج كما نصحنى بالاستعانة بكتاب " المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة – مستحثة – حيوية) ودورها فى أمراض النبات " للأستاذ الكبير أ.د. محمود موسى أبو عرقوب والصادر عن المكتبة الأكاديمية – القاهرة ٢٠٠٢ . كما شجعنى على تناول هذا الموضوع ثلاثة مشاركات فعالة : الأولى تحمل مسئولية أحد المشروعات البحثية الكبيرة بين كلية الزراعة جامعة عين شمس وجامعة ميرلاند كوليج بارك بأمريكا بعنوان " المناورة بالكيميائيات الدفاعية فى بعض المحاصيل الحقلية لتحفيز المقاومة ضد الآفات الحشرية " فى الفترة من ١٩٩ وحتى ١٩٩ . المشاركة الثانية جاءت من خلال اختيارى عضو خارجى لتحكيم رسالة الدكتوراه للزميل / د. أحمد خميس على نفس الموضوع بكلية الزراعة جامعة الإسكندرية . المشاركة الثالثة مشاركتى فى مناقشة المشروع البحثى الممول من أكاديمية البحث العلمى والتكنولوجيا – مصر عن تحفيز مقاومة نباتات البطاطس ضد الأمراض والحشرات التى تصيب محصول البطاطس . عندما تجمعت لدى المادة العلمية وزيادة قناعتى عن أهمية هذا الموضوع الذى يستهدف تقليل الاعتماد على المكافحة الكيميائية بالمبيدات للسيطرة على الآفات والأمراض توكلت على الله العزيز الخالق المصور فى البدء بالكتابة عن الموضوع رغم قصور معلوماتى فى هذا السبيل بسبب الإحباط الشديد الذى شعرت به ومازلت من عدم المضي فى المشروع المصرى الأمريكى (المناورة النباتية ضد الأمراض والحشرات) بعدما تحصلنا على حزمة الألليلوكيميائيات المسئولة عن تحفيز نباتات فول الصويا وفول المانج والذرة والقمح. لقد تعمد الفريق الأمريكى بمساندة ومباركة من منسق عام المشروع فى مصر من حرماننا من المضى قدماً فى دراسات الهندسة الوراثية والبيولوجيا الجزيئية لتعريف الجينات المسئولة عن تعظيم هذه الألليلوكيميائيات وحث النباتات على إنتاجها بوفرة وبكميات بما يحفز ويعظم المقاومة النباتية ... لقد أصبح هذا العمل الضخم الذى أجرى

فى تعاون وتناسق كبيرين بن كلية الزراعة جامعة عين شمس ومعهد بحوث وقاية النباتات وجامعة ميرلاند كوليج بارك فى طي النسيان ...

عندما تفاقمت المشاكل الصحية والبيئية من جراء الاندفاع نحو المكافحة الكيميائية باستخدام المبيدات الفعالة كما حدث من تعظيم استخدام الددت في الحرب العالمية الثانية لمكافحة خنفساء الكلورادو التى دمرت محصول البطاطس فى ذلك الوقت وكذلك مكافحة البعوض الناقل لطفيل الملاريا من معسكرات جيوش الحلفاء فى الحرب ومكافحة البراغيث الموجودة على الفئران البرية التى تنقل مسبب مرض الطاعون وكذلك مكافحة القمل الذى ينقل مسبب مرض التيفوس وجميعاً أمراض وبائية أدت إلى وفاة مئات الآلاف من البشر بل الملايين ... لقد قيل يومها أن الددت هو المبيد المعجزة الذي خلص العالم من العديد من الآفات الناقلة لمسببات الأمراض الخطيرة بكتيرية أو فيروسية كما أنه أنقذ إنتاج العديد من الحاصلات الزراعية وساهم فى سد الفجوة الغذائية فى العديد من دول العالم ... بعد الإسراف في الاعتماد على المبيدات في مكافحة الآفات الزراعية وتلك التى لها علاقة بالصحة العامة ظهرت العديد من المشاكل أولها ظهور وتطور مقاومة الآفات لفعل المبيدات والعديد من المشاكل الصحية والبيئية والتلوث ...

أدى ظهور المشاكل الخطيرة بسبب الإفراط فى استخدام المبيدات فى مكافحة الآفات الزراعية الحشرية والأمراض النباتية وتلك التى لها علاقة بالصحة العامة إلى مناداة العديد من الجماعات والهيئات في جميع أنحاء العالم بالتقليل من استخدام المبيدات وعدم اللجوء إليها إلا عند الضرورة القصوى وتعظيم برامج الإدارة المحصولية المتكاملة لمكافحة والسيطرة على الآفات الزراعية وبرامج الإدارة المتكاملة للآفات المرتبطة بصحة الإنسان والحيوان . لقد نجحت دول كثيرة فى هذا السبيل ونخص بالذكر السويد التى نجحت فى تقليل كميات المبيدات المستخدمة فيها إلى الربع (٧٥%) فقط مع تحقيق مكافحة ناجحة للآفات وبدون أن يتأثر الإنتاج المحصولى كماً ونوعاً عن طريق الترشيد وتعظيم برامج الإدارة المتكاملة للمحصول / الآفة / المبيد . منذ ذلك الوقت اجتهد كثير من بحاث وعلماء ومسئولى وقاية النباتات فى البحث عن سبل ووسائل وخطط واستراتيجيات وتكتيكات لخفض أو عدم استخدام المبيدات التقليدية السامة شديدة الخطورة علـى الصحة العامة والبيئة. برز من بين وسائل الإدارة المحصولية المتكاملة اقتراب ضرورة اختيار الأصناف النباتية المقاومة لفعل الآفات ودارت عجلة البحث العلمى الأكاديمى والتطبيقى بمشاركة العديد من العلوم والمعرفة بغرض الحصول على أصناف نباتية مقاومة للآفات . لقد شارك علماء الإنتاج النباتى وفسيولوجيا النبات والكيمياء الحيوية والهندسة الوراثية والميكروبيولوجى وأمراض النبات ووقاية النبات وغيرهم فى هذا الاتجاه وتحقق نجاحات كبيرة لا يمكن إنكارها فى بعض المحاصيل الحقلية مثل القمح والذرة وكذلك العديد من الخضراوات خاصة الطماطم والفلفل وغيرها ومازال العمل مستمراً لأن هذا هو السبيل لتقليل الفقد المحصولي بالآفات وسد الفجوة الغذائية عن طريق تحقيق إنتاج وفير كما

ونوعاً من خلال الهندسة الوراثية والبيولوجيا الجزيئية وعلى الله العظيم العلى القدير قصد السبيل . للأسف الشديد نحن نقف فى مصر موقف المتفرجين بـرغم بعـض الأبحـاث المتناثرة هنا وهناك ...

لقد ذكر أ.د. محمود موسى أبو عرقوب فى مقدمة كتابه وجود أربعة طرق تعظـم مقاومة النباتات ضد مسببات الأمراض النباتية وهى : المقاومـة الجهازيـة المكتـسبة ، المقاومة الجهازية المستحثة ، المقاومة الحيوية ، المضادات الحيوية . لقد أضاف سـيادته أن هذه الطرق لها استخدامات عملية تطبيقية فى تحقيق المقاومة النباتية للآفات والأمراض النباتية وبعضها حقق نجاحات كبيرة على المستوى التجارى والعمل مازال مستمراً علـى قدم وساق . المقاوم المستحثة فى النباتات تظهر بعد الحقن أو المعاملة المـسبقة للنباتـات بأى من العوامل الطبيعية أو الكيميائية أو الحيوية . لقد تم استحثاث المقاومة فى العديد من الأصناف النباتية ضد الفطريات والبكتريا والحشرات . إن حقن النبات بعوامل الاستحثاث يدفع النبات دفعاً لتحفيز عوامل المقاومة بالعمل للتغلب على المسبب المرضى . هناك مـا يعرف بالمقاومة المستحثة الموضعية التي تحدث بعد بضعة أيام فى المنطقـة المحيطـة بأماكن الإصابة الأولية ويمكن أن تتكشف فى الأجزاء غير المحقونة أما إذا تكشفت فـى أوراق بعيدة عن المحقونة يطلق عليها " مقاومة جهازية مـستحثة " . ظهـور المقاومـة المستحثة يحتاج وقت من الحقنة الأولى (الحث) وحقنة الاختبار حتى تتكـون أو تخلـق المادة أو المواد الكيميائية الحيوية المسئولة عن المقاومة . لذلك فإن المقاومـة المـستحثة العضوية تتكشف فى الأوراق المحقونة بعد ٢ – ٣ أيام من الحقن بينما المقاومة المستحثة الجهازية تتكشف بعد ٧ أيام من الحقن الأولى . لقد تأكد أن المقاومة المستحثة فى النباتات ترجع إلى تكوين بعض البروتينات الجديدة فى أنسجة النبات العائل وقد سميت بالبروتينات المتعلقة بالمرضية...

هناك جدل كبير بين اصطلاحى المقاومة الجهازية المستحثة والمقاومـة الجهازيـة المكتسبة فالبعض يعتبرهما استحثاس والبعض يعتبرهما قسمان دون أن يحـددوا الفـرق الجوهرى بينهما . المقاومة الجهازية المكتسبة تظهر بعد حقن النبات بكائن حـى يحـدث نكرزة فى الأوراق وتعتمد فى التكشف على حامض السلسيليك وتكوين بروتينات خاصـة هى البروتينات المرضية أما المقاومة الجهازية المستحثة تعتمد فى تكشفها علـى بعـض أنواع الرايزوبكتريا المعزولة فى التربة وتظهر فى نباتات ذات الفلقتان أو عديدة الفلقات . المقاومة الحيوية تعنى استخدام الكائن الحى العادي أو المهندس وراثياً لتقليل تأثير الآفات شريطة أن تكون متوافقة مع الكائنات الدقيقة النافعة ولا تضر بالمحـصول المـستهدف . أحدث الاقترابات فى هذا الاتجاه إحداث تغييرات فى جينات بعض سلالات الكائنات الحية الدقيقة بحيث تقاوم أو تضاد السلالات الممرضة أو تثبط أو تمنع تكاثرها وهذا هو عمـل الهندسة الوراثية من خلال تغيير تركيب الأحماض النووية " الـدنا والرنـا " . اقتـراب المضادات الحيوية يعنى استعمال منتجات ميكروبية لمقاومة ميكروبات أخرى . والكثيـر

منها يوجد على نطاق تجارى فى مقاومة الفطريات الممرضة للنباتات وتتميز برخص التكلفة وهى شائعة الاستخدام فى أمريكا ضد مرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى ومعظم أمراض الأرز ولفحة الفلفل .

أولاً : المقاومة المحفزة فى النبات Inducing résistance

١- تحصين النبات Plant immunization

منذ أواخر القرن التاسع عشر ظهرت فكرة أن النبات عنده القدرة على تكشف شكل من أشكال المناعة المكتسبة للإصابة بعد تعرضه للإصابة من كائن ممرض أو مواد مضادة جينياً من كائن ممرض . بعد تجارب مضنية تأكد أن زيادة مقاومة النبات للممرض تكون موضعية فى أماكن الحقن أو العدوى ولا تكون جهازية كما فى الحيوان . الأساس الميكانيكى لهذه الظاهرة يرجع إلى أن أنسجة النبات الممرضة لظروف الإجهاد الطبيعى أو لمسببات مرضية يتجمع فيها مركبات ذات وزن جزيئى منخفض ومضادة للميكروبات تسمى " فيتو الكسينات Phytoalexins " وهذا إحدى العناصر وليست كل منظومة المقاومة المحثة .

السؤال الآن : ما هو دليل تكشف مقاومة جهازية فى النباتات ضد الكائنات الممرضة ؟ لقد تأكد من خلال تجارب أجريت على نباتات الدخان والفطر المسبب لمرض البياض الزغبى بيرنسبورا تاباكينا الذى يهاجم الأوراق ويسبب مرض العفن الأزرق . لقد أدى حقن الفطر إلى حدوث مقاومة ضد المرض فى الأوراق الواقعة فوق منطقة الحقن بالمسبب الممرض . لقد كانت المقاومة النباتية فى حدود أكثر من ٩٠% عن المقارنة وكانت أفضل من المعاملة بالمبيد التقليدى الموصى به " ميتالاكسيل " وقد حدث تكشف المقاومة بعد ٣ أسابيع من الحقن . هذه المقاومة الجهازية تكشفت بعد ٣ أسابيع من الحقن .... المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic aquired resitance تختصر (SAR) . طريقة التكاثر تلعب دوراً كبيراً فى تحقيق هذه المقاومة فالتكاثر الخضرى لا يحقق هذه المقاومة على عكس ما يحدث مع التكاثر بالأنسجة . لقد أدى حقن نبات الدخان الحساس لبعض الفطريات البيضية فيتوفتثورا وبرنوسبورا الحساسة لفيروس TMV إلى حدوث مقاومة لهذه الفطريات وحشرات المنّ . لقد حدثت مقاومة مكتسبة فى نبات الخيار للعديد من المسببات المرضية مثل محدثات البياض الدقيقى والزغبى وفطريات الذبول الوعائى والانثراكنوز ...

تحدث المقاومة الجهازية المكتسبة وتتميز بعدة خصائص : تحدث تحت تأثير بعض العوامل الممرضة المسببة للبقع الموضعية ، تحتاج حضانة عدة أيام من بدء عملية الحث ، تحقق وقاية للأنسجة التى لم تتعرض للحث ، تظهر على صورة خفض البقع وحجم وإنتاج جراثيم الممرض ، تدوم لعدة أسابيع ، الوقاية ليست متخصصة ، تنتقل إشارات

المقاومة بواسطة التطعيم ، لا تنتقل إلى البذور . توجد فى أكثر من ٢٠ نبات تتبع عائلات نباتية منخفضة . عن ميكانيكية حدوث ظاهرة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR وجد أن المعاملة بالحاث الأولى يولد إشارات فى الأنسجة المعرضة تنتقل إلى الأجزاء البعيدة من النبات حيث تكون الخلايا معدة للمقاومة عند الحقن بالكائن الثانى عن طريق مجموعة من الجينات تنسخ بروتينات متعلقة بالدفاع . الجدول (١-١) يوضح التطور التاريخى لاكتشاف وأبحاث ظاهرة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR .

جدول (١-١) : تسلسل تاريخى لاكتشاف وبحوث SAR (مأخوذة من كتاب المضادات الحيوية والمقاومة الحيوية والمقاومات الثلاثة أ.د. محمود موسى أبو عرقوب)

السنة	الاكتشاف
١٩٣٣	دراسة حول إمكانية وجود مناعة جهازية فى النبات .
١٩٥٩	ملاحظات حقلية على وجود بعض أنواع المقاومة المكتسبة فى الدخان .
١٩٦٠	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة فى الدخان ضد مرض العفن الأزرق .
١٩٦١	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة فى الدخان لفيروس موزايك الدخان .
١٩٧٥	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة فى العائلة القرعية لبعض الأمراض الفيروسية .
١٩٨٢	ملاحظة المقاومة الجهازية المكتسبة فى الشعير ضد الأمراض الفطرية .
١٩٨٩	اكتشاف المقاومة الجهازية ضد بعض الحشرات .
١٩٩٢	اكتشاف المقاومة الجهازية فى نبات Arabidopsis .
١٩٩٤	اكتشاف الدور الرئيسى والمركزى لحمض السلسليك فى المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٥	اكتشاف أول حاث يستعمل تجاريا للحصول على المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٦	اكتشاف أن المقاومة الجهازية المستحثة تحدث بدون الحث على تكوين بروتينات متعلقة بالمرضية .
١٩٩٧	أثبت Press et al دور الكائنات PGPR فى إحداث مقاومة جهازية مستحثة .
١٩٩٨	إدخال بعض المستخلصات النباتية كمواد حاثة على المقاومة الجهازية المكتسبة .
١٩٩٩	أثبت العالم Chen أن دور حمض السلسليك يكون فقط فى المقاومة الجهازية المكتسبة وليس المستحثة .
٢٠٠٠	أثبت كل من Beer , Dong أن الرايبوفلافين يشجع تكون ممر إشارى جديد إلى المقاومة .

لقد كثفت العديد من الشركات العالمية الكبرى فى مجال صناعة الكيميائيات الزراعية أنشطتها نحو الحصول على مركبات تحقق مقاومة داخلية فى النباتات ضد غزو العديد من المسببات المرضية الهامة وكذلك الحشرات . لقد أمكن تحقيق نجاحات فى هذا الشأن كما هو الحال مع مادة بروبينازول ومادة بنزوثيا (يازولات) ومنها مـادة GOA 245704 Bion المستخدمة عالمياً على نطاق تجارى لإحداث المقاومة النباتية . هذه المواد تفيد مع حالات ظهور مقاومة أو عدم فاعلية المبيدات الفطرية ضد بعـض المـسببات المرضـية للنباتات . هناك أسئلة كثيرة مثارة حول هذه المواد الكيميائية الحاثة للمقاومة النباتية مثل : طرق وتوقيت الاستعمال المناسب والتوافق مع المبيدات الأخـرى ومـدى تـداخلها مـع العمليات الفسيولوجية فى النباتات .

لقد تباينت آراء الباحثين الذين شاركوا فى المؤتمر العالمى الأول عن المقاومة التـى تحدث فى النباتات عقد فى أواخر عـام ٢٠٠٠ حـول المقاومـة الجهازيـة المكتـسبة SAR (Systemic aquired resistance) والمقاومة الجهازية المـستحثة (Induced systemic resistance) ISR على الجانب الآخـر فـإن اصـطلاح إحـداث المناعـة Immunization يدل على المناعة الدفاعية فى الحيوان وقـد أتفـق علـى أن عمليـة التحصين بالفاكسينات بعيدة تماماً عن نوعى المقاومة النباتية هذه . المقاومة المستحثة فى النباتات نادراً ما تمنع حدوث المرض ولكنها تخفض نشاطه وانتشاره على النبـات . أول مادة أحدثت أو نبهت المقاومة المحدثة فى النباتات هـى Aribenzolao – s – methyl ويرمز لها (BTH) وتباع تجاريا فى شركة نوفارتس وتباع فى أمريكا وأوربـا تحـت الاسم التجارى "بيون" . كلمة جهازية Systemic فى المصطلحين SAR , ISR تعنـى أن هذه المقاومة ليست محددة فى أجزاء النبات التى عوملت بالحاثات ولكنها تمتـد إلـى الأجزاء الأخرى غير المعاملة خاصة النموات الحديثة من النبات . لقـد أتفـق علـى أن المقاومة الموضعية تختلف عن نوعى المقاومة SAR , ISR أيا كان الاصـطلاح فـإن الجميع على فهم وقناعة كاملة بأن المقصود هو استحثات المقاومة الدفاعية فـى النباتـات بسبب إثارتها بواسطة كائنات ممرضة ضعيفة وهذا ما يقوم العلماء بغرس هـذا العامـل سواء كان طبيعيا أو كيميائيا أو حيويا فى النباتات حتى تتحفز وتنتج أسباب المقاومة ضد الآفة ويا ليت الوقت يأتى يبشر بنجاح تحقيق مقاومة نباتية ضد معقد الآفات ...؟

لقد سبق الإشارة إلـى المقاومـة المكتـسبة الموضـعية Localized acquired resitance (LAR) خاصة مع الممرضات البكتيرية وفيروس موزايك الـدخان وهـى تختلف عن المقاومة الجهازية ولقد تأكد أن حمض السلسليك (SA) يلعب دوراً هاما فى تأسيس LAR , SAR ولا يلعب الأكسجين النشط دوراً فى هذا الخصوص كمـا تنـشط

بواسطة البكتريا الحية والميتة وكذلك السكريات العديدة الدهنية (LPS) المقاومة الموضعية المستحثة بالبكتريا تحدث فى طورين زمنيين الأول يحدث مبكراً حيث يحتاج ٦ – ٢٠ ساعة ويثبط بمواد تثبيط بناء البروتين والطور الثانى يحدث متأخراً حيث يحتاج ٢٤ ساعة كى يتكشف . فيما بعد سوف نتناول ما يحدث للنباتات بعد الاستحثاث ؟

المقاومة المستحثة فى النباتات تحدث بالعديد من العوامل الحيوية (فطر – بكتريا – حشرات ... الخ) والمثيرات الكيميائية (Bion) وكذلك الظروف البيئية (البرد الشديد والتقسية الشتوية) تحث على المقاومة لأعفان الثلج بسبب حدوث مستويات عالية من نسخ إنزيمات الكيتينيز والبيروكسيديز وظهور بروتينات المقاومة للمرضية والعديد من الإنزيمات الدفاعية . أدت معاملة القمح والشعير بالحمض غير الأمينى بيتا – أمينو بيوتيريك آسيد (BABA) إلى حث المقاومة ضد النيماتودا الحويصلية . الاستحثاث بواسطة المركب Bion أكثر وضوحاً فى نباتات أحادية الفلقة وهى تنشط المقاومة ضد الأمراض الفطرية مثل تجعد أوراق الطماطم وكذلك ضد حشرات الذبابة البيضاء . هناك مادة Oxycom TM تلعب دوراً فى توليد الأكسجين وتوجد تجارياً وتحث الجينات المسئولة عن الدفاع من خلال حل شفرة البروتينات الداخلة فى تمثيل الفينولات وتقسية جدار الخلايا النباتية . هناك مادة مخلقة DF – 391 من مشتقات البيريدين تحث على المقاومة الجهازية المكتسبة فى الخيار ضد مرض الانثراكنوز .

الحاثات الأولية للمقاومة النباتية (كائن ممرض على الأوراق أو الحقن بالريزوبكتريا أو التجريح) تلعب أدواراً مختلفة فى نقل الإشارات الحاثة للمقاومة عبر الممرات وتكوين الحافز . هذه الممرات تعتمد على المواد المنظمة الداخلية مثل حمض السلسيلك والاثيلين وحمض الجسمنك للحث على تفاعلات دفاعية . كمثال يوجد عابر إشارى للضوء ينبه ويحث تكوين البروتين المتعلق بالمرضية بواسطة حامض السلسيلك مؤدياً إلى دفاعات ظلام ضد إضاءة . لقد ثبت أن التداخل بين هذه الممرات يؤدى إلى المقاومة المكتسبة . يمكن حث المقاومة من خلال ممرات إشارية مختلفة بواسطة الحشرات والكائنات الممرضة . لقد وجد أن معاملة نباتات القطن بمادة BTH تؤدى إلى زيادة فى كل من البروتينات المتعلقة بالمرضية الموضعية والجهازية ولكنها لم تؤثر على الذبابة البيضاء وديدان اللوز . إنزيمات تحطيم جدار الخلية والتى تفرز بواسطة الممرض المسبب لمرض العفن الطرى البكتيرى تنبه ممر غير معتمد على حامض السلسيليك فى نبات أرابيدوبسيس وهذا يعتمد على التأثيرات التعاونية للاثيلين وحمض الجسمونيك . مازال هناك قصور فى فهم طبيعة الإشارات المنتقلة جهازياً .

عن كيفية ظهور المقاومة النباتية يتساءل الكثيرون عن : كيف تستطيع النباتات أن توقف تكشف الكائن الممرض فى أنسجتها ؟ لقد تأكد أن العديد من العوائل النباتية تستجيب للمقاومة المستحثة وأن جميع العمليات التى تحدث فى النباتات تكون تحت التحكم الوراثى

ومعنى ذلك أنها تشمل جميع أشكال المقاومة . لقد وجد أن المقاومة الممولة وراثيا في بعض الأنظمة (نبات – ممرض) ترتبط مع الإنزيمات مثل الكيتينيز في إحداث المقاومة الجهازية المكتسبة ونفس الشيء مع إنزيمات هيدروليزيس . لقد وجد أن المقاومة الجهازية المكتسبة في الشعير ضد فيروس التقزم الأصفر في الشعير لها علاقة بالتحول الوراثي وهذه كانت مترافقة مع موقع مفرد هو ISR – 1 في النبات العائل . عملية الحث على المقاومة الجهازية المكتسبة في فول الصويا تشمل الإثارة الكافية لتجمعات جلايسبولين من خلال ممر أكسدة والحث على تجمع الأيزوفلافون عن طريق مستقبلات نووية . في الأرز تحث مادة BTH على إنتاج إنزيمات ليبواكسجينيز ولم يوضح دورة في المقاومة المكتسبة حتى عام ٢٠٠١ . يلعب حمض الابسيسيك (ABA) دوراً كبيراً في مقاومة الكائنات الممرضة في نباتات الطماطم التي تفتقر لهذا الحامض وقد اكتسبت مقاومة جهازية ضد فطريات بوتراتيس وسكليروتينيا والترناريا . وقد كان BTH فعالاً في الحث على المقاومة ضد البوتراتيس سينيريا في الأنواع البرية للنبات . بالإضافة إلى بروتينات المناعة فإن بناء الفيتوالكسينات وتقسية جدار الخلية هي استجابات دفاعية والتي تستحث خلال التفاعلات غير المتوافقة أو المعاملة بالمهيجات . هذه الاستجابات تتدخل في زيادة نشاط إنزيمات الأكسدة بالإضافة إلى بناء التربينويدز و / أو مواد بادئات عطرية .

ثانياً : المقاومة الجهازية المكتسبة Systemic acquired resistance

لقد سبق القول أن المقاومة الجهازية المكتسبة ما هو إلا نظام مستحث للمقاومة النباتية يتم تنبيهه بواسطة كائنات ممرضة تحدث بقع موضعية . هذا يعني أنه بعد إصابة النبات بالممرض تستحث عوامل المقاومة في داخله بعد فترة حضانة حوالي سبعة أيام مما يحقق وقاية للأنسجة غير المعرضة للكائن الممرض حيث تقل عدد البقع ويقل حجم وإنتاج الجراثيم وتكاثر الممرض وتستمر الوقاية لعدة أسابيع أو شهور . لقد سبق الإشارة إلى هذه الوقاية أو المقاومة المستحثة ليست متخصصة وهناك إشارات وقنوات المقاومة تترجم وتنقل بالتطعيم ولا تنتقل عبر البذور إلى الأجيال القادمة .

سبحان الخالق العظيم حيث أفاض على الكائنات الحية بما فيها النبات مقاومة طبيعية ضد الكائنات الممرضة متفردة أو مجتمعة يشار إليها بالمقاومة التكوينية Cunstitutive وعلاوة على ذلك يستطيع النبات تنشيط موانع أو نظم أخرى للمقاومة ضد إصابته الموضعية بالمسبب المرضي وهذا ما اتفق على تسميته بالمقاومة المستحثة Induced والتي أتفق بعد ذلك على تسميتها بالمقاومة المكتسبة Acquired . بعض النباتات المقاومة للأمراض توقف وتحصر انتشار الكائن الممرض في مساحة صغيرة حول الموضع الأولي للإصابة وتظهر بقع نكروز موضعية حيث تموت الخلايا في هذه المنطقة كنوع من الانتحار في المنطقة الموضعية لحماية الأجزاء الأخرى من الأوراق أو النبات .

على غرار ما حدث مع المناعة أو المقاومة المكتسبة فى الإنسان ضد مسببات الأمراض الوبائية حيث المعاملة بالفاكسينات وهى نفس الممرضات فى تجهيزات ضعيفة عندما يأخذها الإنسان تحفز جهاز المناعة للتغلب عليها ثم تستمر المناعة لسنوات طويلة ثم اتباع نفس الأسلوب حيث تحقن النباتات بالكائنات الممرضة الضعيفة Attenuate تؤدى إلى الوقاية ضد الإصابات التالية من قبل الكائنات الممرضة نفسها أو ذات القرابة بها . لقد سبق القول بأن المقاومة المكتسبة فى النبات تشمل نوعين الأول الموضعية (Local (LAR والجهازية Systemic (SAR) . المقاومة الجهازية المكتسبة ترجع إلى قيام النبات المستحث ببناء مجموعات متميزة من البروتينات ذات تأثير سيرولوجى متميز ذات وزن جزيئى منخفض تسمى البروتينات ذات العلاقة بالمرضية Pathogenesis related proteins (PR's) بعضها معروف الوظائف والأخرى غير معروفة مثلاً ببروتينات PR – 2 تحتوى نشاط B – 1,3 – gluconase وبروتينات PR 3 – هى مجموعة من Chitinases . هناك نظرية المقاومة جين لجين Gene – fur Gene حيث أن النبات قد يكون مقاوم أو قابل للإصابة ضد سلالات معينة من الكائن الممرض بينما SAR فيها نسبة عالية من المقاومة ضد مدى واسع من الكائنات الحية الدقيقة .

ميكانيكيات المقاومة الجهازية المكتسبة :-

١- اللجننة والحوافز التركيبية الأخرى :-

اللجنة ظاهرة تمنع الإصابة بالكائنات الدقيقة الممرضة مثل الفطريات والبكتريا والفيروسات والنيماتودا . اللجننة ليست قاصرة على التفاعل غير المتوافق بين الكائن الممرض والنبات كما فى نظام جين لجين آخر حيث لوحظت فى العائل غير المقاوم وكذلك حالة المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . يتكون اللجنين عن طريق بادئات البلمرة العشوائية لفقد الايدروجين الناتجة من ممر الفينيل بروبانويد . الخطوة الأولى فى هذا الممر تتمثل فى إزالة مجموعة الأمين للفينايل الانين وإنتاج حامض السيناميك بواسطة إنزيم فينايل الانين أمونياليز (PAL) . هناك إنزيمات أخرى داخلة فى ممر الفينايل بروبانويد التى تستحث تفاعلات المقاومة الجهازية المكتسبة وهى إنزيم سيناميل الكحول ديهيدروجينيز ، ٤ – كومارات : مرافق إنزيم ليجييز ، بيروكسيديز . لقد وضعت تفسيرات عن دور اللجننة فى المقاومة

- دمج اللجنين فى جدار الخلية يقويه ميكانيكياً ويجعله أكثر مقاومة للتحطيم بواسطة الإنزيمات التى تفرزها الكائنات الممرضة .
- صعوبة تحطيم تركيبات اتحاد اللجنين مع جدار خلية النبات .

- تشكيل حاجز مانع للحركة الحرة للمغذيات .
- يمكن لبوادىء اللجنين أن تمارس تأثيرا ساماً على الكائن الممرض .
- ترتبط بوادىء اللجنين مع جدر الخلية الفطرية مما يجعلها أكثرها قساوة وغير منفذة مما يعوق نمو وامتصاص الماء والتغذية للممرض .
- تظهر اللجننة كاستجابة لتفاعل فرط الحساسية .
- تكوين تركيبات إضافية (حليمات) .

بعد الإصابة يمكن أن يحدث تقوية لجدار الخلية بواسطة إنزيم البيروكسيديز المحفز بوصلات قاطعة من جلايكوبروتينات جدار الخلية الغنية بالهيدروكسى برولين .

٢- البروتينات المتعلقة بالمرضية (PR's)

لقد أظهرت الدراسات الأولية أن معظم البروتينات المتعلقة بالمرضية تتجمع فى الفراغات خارج الخلية أو فى الفجوات الخلوية وتوجد هذه البروتينات فى المواقع المرضية لكثير من النباتات . تجمع هذه البروتينات بعد مهاجمة الكائن الممرض يكون له دور كبير فى حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة . الكائنات الممرضة تشمل الكائنات الدقيقة والنيماتودا والحشرات وآكلات الأعشاب ، لقد ذكر العالم Van loon عام ١٩٩٤ أن هناك أربعة عشر مجموعة من هذه البروتينات الدفاعية كما فى الجدول (١-٢) . تم تعريف تسعة عائلات بروتينات فى الطماطم وأحدى عشر عائلة من البروتينات المتعلقة بالمرضية فى نباتات الدخان وكلاهما تم تعريفهما على أساس مستوى الحمض النووى الرسول m RNA البروتينات المتعلقة بالمرضية تتجمع فى مواقع الإصابة بالآفات أو العوامل الأخرى وبعضها يتجمع فى الأجزاء غير المصابة ولكن بدرجة أقل . الجينات المرتبطة بهذه المجموعات من البروتينات تسمى جينات المقاومة الجهازية المكتسبة SAR genes . تختلف طبيعة ومستوى تعبير بروتينات SAR باختلاف أنواع النبات . يمكن تحديد دور البروتينات المرتبطة بالمرضية باستعمال النباتات المتحولة وراثيا ومظهرة الجينات ذات العلاقة .

٣- التكيف Conditioning

عندما تعامل أو تصاب النباتات بكائن حى ممرض مسبب للنكرزة او مادة صناعية حاثة على المقاومة الجهازية المكتسبة فإن الأوراق التى تظهر فيها المقاومة سرعان ما تتفاعل ضد الإصابة بالممرض فى عملية تسمى التكيف أو إكساب الحساسية Sensitizing وتكون مصحوبة بحدوث تغيرات بيوكيميائية فى النبات مكتسب الحساسية . لقد وجد تجمع للفينولات مع عملية اللجننة حول منطقة محاولة أنبوب الإنبات الفطرية

للاختراق . حدث زيادة فى إنتاج الكومارنيات بعد المعاملة بفطر فيثوفثورا ميجاسـبيروما كما يكون للنباتات المقاومة قدرة حقيقية على دمج مشتقات الفينايل بروبانويد فـى جـدار الخلية . وجد أن الحقن المسبق للمزارع الخلوية لنباتات البقدونس بمادة ميثل جاسـمونات تحدث وتحفز المقاومة النباتية ضد الفطريات . كذلك وجد أن حك الكيوتيكل فـى فلقـات الخيار الشاحبة بالمغذيات الحاثة على حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة SAR تزيد مـن كفاءة الخلايا المحصنة فى إزالة الماء الأكسجينى . فى المقاومة النباتية المرتبطة بالظهور السريع لحلمات الكالوس بعد التحصين بالفطر ترجع إلى زيادة النشاط للغشاء المتخصص المرتبط بالكالسيوم Ca^{++} مع إنزيم بيتا – ٣,١ – جلوكان – سينسيز فى النسيج المتكيف .

جدول (١-٢) : البروتينات المتعلقة بالمرضية فى النباتات من حيث نوع النبات والجين

Families Type member	Properties	Gene symbol	Reference
PR-1 Tobacco PR- la	Antifungal	Ypr 1	Antoniw et al ., 1980
PR-2 Tobacco PR- 2	B -1.3 glucanase	Ypr 2 [Gns2 (GLB)	Antoniw et al ., 1980
PR-3 Tobacco P. Q	Chitinase type 1.11	Ypr 3 , Chia	Van Loon , 1982
PR- 4 Tobacco " R "	IV , V , VI , VII	Ypr 4 , Chid	Van Loon , 1982
PR- 5 Tobacco S	Chitinase type 1.11 thaunatin-like	Ypr 5	Van Loon , 1982
PR -6 Tomato Inhibitor 1	Proteinase – inhibitor	Ypr6 . pis (pin)	Green an Ryan, 1972
PR – 7 Tomato P_{69}	Endoproteinase	Ypr 7	Vera and Conejero , 1988
PR – 8 Cucmber chitinase	Chitinase type III	Ypr 8. Chib	Metraux et al. 1988
PR – 9 Tobacco ilignin – foming peroxidase	Peroxidase	Ypr 9 . Prx	Lagrimini et al. 1987
PR – 10 Parsley " PRI "	nbonuclease - like	Ypr 10	Somssich et al. 1986
PR – 11 Tobacco class V chitinase	Chitinase typ 1	Ypr 11. Chic	Melchers et al. 1994
PR – 12 Radish Rs – AFP 3	Detensin	Ypr 12	Terras et al. 1992
PR – 13 Arabidopsis	Thionin	Ypr 13. Thi	Epple et al. 1995

THI 2.1			
PR – 14 Barley LTP 4	Lipid- transfer protein	Ypr 14, Lip	Garcia- Olmeda et al.1995

ثالثاً : المواد الحاثة على تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة :

١- المواد الكيميائية :

توجد العديد من المواد الكيميائية الطبيعية أو الصناعية حاثة للمقاومة الجهازية المكتسبة فى النباتات شريطة أن يتوفر فيها بعض الخصائص منها :

١- لا يكون لها أو نواتج تمثيلها تأثير مباشر على نشاط أو حيوية الميكروبات المرضية .

٢- يكون لها فعل مشابه لما تحدثه الكائنات المرضية فى إثارة ميكانيكيات الدفاع .

٣- لا يكون متخصصاً لكائن ممرض معين وأن يستمر مفعوله لمدة طويلة فى وقاية النبات وتنبيه وحث التفاعلات الدفاعية التى سبق الإشارة إليها .

مواد غير عضوية : أملاح الفوسفات مع الخيار والذرة ، الكالسيوم المنفصل فى منطقة استعمال الفوسفات ، ثانى أكسيد السليكون (مقروناً بزيادة نشاط إنزيمات الكيتنيز ، بيروكسيديز ، بولى فينول اكسيديز ، بيتا – ٣,١ – جلوكانيز ، السليكون عند إضافته للتربة .

مركبات عضوية طبيعية : تمثل مجموعة عديدة من المركبات :

أ – أحماض دهنية (غير مشبعة ومؤكسدة) : مثل أحماض لينولينيك وأركيدونويك ، أوليك ، لينوليك التى تستحث المقاومة الجهازية المكتسبة فى البطاطس ضد فطر فيتوفثورا إنيفكانس . هذا التأثير لا يقترن بزيادة مستويات حامض السليسيليك أو جين المقاومة . المشتقات المؤكسدة من حمض الفا – لينولنيك التى تتراكم فى الأوراق المصابة تحث المقاومة SAR عندما تضاف للجذور . هناك أنواع من الفاتيفثورا تفرز مثيرات للمقاومة مثل مادة كربتوجين تحث SAR فى الدخان .

ب – مادة نيكوتين أميد : تزداد هذه المادة فى أوراق نبات البسلة تحت ظروف قاسية من الأكسدة .

ج – حمض السلسليك (Salicylic acid (SA : لقد كان أول اكتشاف لحمض السلسليك فى أوراق أشجار الصفصاف Salix (لاتينى) وهو دواء الأسبرين الذى يخضع للتحليل المائى عند تناول الإنسان ويتحول لحمض السلسليك فى المحاليل المائية . عند إضافة الإسبرين للنباتات يتحول إلى حمض السلسيلك . يعمل هذا الحامض على وقف بناء الغدد المكونة للالتهاب بسبب حمض الأرشيرونك وفى نبات الدخان يخفض الأعراض المرضية عن فيروس موزايك الدخان وقد يؤدى إلى تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية PR's . كذلك يؤدى هذا الحامض إلى تكوين بروتينات مستحثة بالاثيلين وبناء مركبات فينولية (عطرية) تشابه حمض السلسليك . وقد أعلن أحد العلماء أن هذا الحامض يمكن أن يكون إشارة مكتسبة للمقاومة الجهازية SAR وتزداد كمية الحامض حتى قبل أن تظهر تعبيرات المقاومة المكتسبة .

يتبع حمض السلسليك مجموعة استثنائية من الفينولات النباتية وهو مركب كيميائى ذات حلقة عطرية تحمل مجموعة ايدروكسيل أو إحدى مشتقاتها الفعالة . الفينولات النباتية منتجات ثانوية (بسيطة) من تمثيل النبات ووجد أخيراً أنها تلعب دوراً أساسياً فى تنظيم نمو النبات وتكشفه ولها تداخلات مع الكائنات الحية الدقيقة الأخرى . الفينولات مواد أساسية للبناء الحيوى للجنين المهم فى تركيب جدر الخلايا النباتية كما أن معظم الفينولات عبارة عن فيتوالكسينات (سموم نباتية) تساعد فى الدفاعات الكيميائية للنبات ضد الميكروبات والحشرات وآكلات العشب . توجد بعض المركبات الفينولية تعمل كمركبات الليلوباثية تؤثر فى إنبات ونمو بعض النباتات القريبة منها . حامض السلسليك له معامل توزيع عالي بين الأوكتانول والماء حيث Logkow = ٢,٢٦ من ثم ينتقل لمسافات طويلة فى اللحاء كما أنه فى الحالة الحرة يكون نشيطاً فى الانتقال والتمثيل والتحويل وقد تنتقل من النقطة الأولية للإثارة إلى أنسجة نباتية بعيدة . لقد تأكد وجود هذا الحامض فى النبات.

حمض السلسليك والأزهار

لقد توصل الباحثون إلى تأثير حمض السلسليك على نضارة الأزهار التى تستمر لمدة طويلة حيث يعمل على تثبيط البناء الحيوى للاثيلين الذى يصل أقصاه على درجة حموضة ٣,٥ – ٤,٥ شريطة أن يكون الحامض بتركيز مناسب حيث أن تركيز ٤٠ ميكرومول يحدث تثبيط ٥٠% لإنتاج الأثيلين . معنى ذلك أن الاسبرين يعمل على تأخير شيخوخة الأزهار فى الورد . حمض السلسليك حتى بتركيز ٤ ميكرومول تحث على تكوين البرعم الزهرى فى مزارع خلية الدخان . لقد أجريت تجارب على النموات الخضرية والتكاثرية لنبات زانثيوم ذو النهار القصير مع تغذية حشرة المنّ وقد افترض أن العامل المسئول عن الحث على الأزهار يمكن أن يتواجد فى الندوة العسلية حيث ينقل المنّ هذا العامل إلى النبات ويحثه على الإزهار . وجد أن الاسبرين عندما يتحد مع السكروز يزيد تفتح

الأزهار في نوع الأوركيد Orcidium . لقد ثبت كذلك تأثير حمض السلسليك على توقيت ظهور البرعم الزهرى وعدد البراعم الزهرية ويكون ذلك تعاونيا مع تأثير حمض الجبرلليك ويكون ذلك متبوعاً مع الزيادة في المحتوى الكلى من RNA وإنزيم الفوسفاتيز وبعض البروتينات الأخرى فى الأعضاء الخضرية للنباتات المعاملة . لقد اقترحت إحدى النظريات أن حمض السلسيليك يحث الأزهار عن طريق عمله كعامل مخلبى من جراء الصفات المخلبية الموجودة فى الحديد المتوفرة فى حمض السلسليك .

تأثير حمض السلسليك على الأغشية وامتصاص الأيونات

لقد اقترح أن حمض السلسليك المنتج فى الريزوسفير يعمل كعامل الليلوباثى حيث يخفض تجمع المواد الصلبة فى الفروع النباتية القريبة وهذا قد يحدث عن طريق التداخل فى انتقال الأيون الغشائى فى الجذور . لقد اتضح أن حامض السلسليك بتركيز ٠,٠٥ ملليمول يثبط امتصاص الفوسفات بنسبة ٥٤% ويخفض امتصاص البوتاسيوم فى جذور الشعير . كذلك وجد أن الحامض بتركيز ١٠ – ١٠ ملليمول يخفض درجة التنفس بشكل كبير فى أوراق نبات الفاصوليا . للحامض تأثيرات أخرى على تكشف النبات حيث يعمل على زيادة عدد القرون والمحصول فى الفاصوليا .

التعامل مع حامض السلسليك يستدعي فهم البناء الحيوى لهذا الحامض . من أكثر الميكانيكيات قبولا تلك التى تبدأ من بناء أحماض البنزويك فى النبات حيث تتحطم السلسلة لأحماض السيناميك وهى مواد وسيطة فى ممر حمض الشيكيميك ومن ثم فإن SA (ortho – hydroxybenzoic acid) ينظر إليها كمشتق من حامض السيناميك الذى يحدث فيه انقلاب إلى حامض السلسليك من خلال واحد من ممرين يختلفان فى موقع وترتيب وتفاعلات الأكسدة – بيتا والأورثوهيدروكسلة والتى يمكن أن تعمل لوحدها فى النبات . هناك بناء حيوى إنزيمى والتى استعملت إنزيم ترانس – سينميات – ٤ – هيدروكسيليز والتى تقلب مركب ترانس – سيناميك آسيد إلى بارا – كوماريك آسيد . هذا التفاعل هو الخطوة الأولى للبناء الحيوى من اللجنين والفلافونويدز وكذلك بوبيكونيوم كما اكتشف فى البسلة فى طور البادرة . هناك كثير من الكائنات الحية الدقيقة تنتج حمض السلسليك عن طريق حامض كروزمك وهو وسيط مهم فى ممر حمض الشكمك . لقد وجد أن الميكروب ميلكوباكتيريوم سيمجاتس ينتج ٣٦ مللجم حمض سلسليك لكل عشرة جرامات وزن جاف من الخلايا فى يوم واحد . هناك ميكروبات مثل بسيدوموناس تنتج حمض سلسليك كمادة وسطية فى البناء الحيوى لكل من بيوكيلين والفينولات سيدوفور .

هناك نظرية تقول أن حمض السلسليك إشارة تحث على تحفيز المقاومة الجهازية المكتسبة ومما يؤكد ذلك أن نفس جينات تكون البروتينات المتعلقة بالمرضية النباتية PR's تكون مستحثة أيضاً بواسطة الإضافات الداخلية لحمض السلسليك .

أظهرت الأبحاث البيوكيميائية أن البروتين المرتبط بحمض السلسليك هو الكتاليز وحيث أن هذا الحامض يوقف نشاط الكتاليز جزئيا للبروتين المرتبط مع حمض السلسليك فقد اقترح أن فوق أكسيد الايدروجين يعمل كناقل ثانوى للحمض للحث على تفاعلات متعلقة بالدفاع وكذلك المقاومة الجهازية المكتسبة فى النباتات ضد المسببات المرضية . هذا ولو أن بعض الأبحاث لم تؤيد هذا الاقتراح حيث أن الدور الحيوى لحمض السلسليك فى تثبيط الكتاليز غير معروف . حمض السلسليك له تأثير مباشر على الميكروبات كما يمكن أن يعمل كمثبط لخطوة من خطوات البناء الحيوى لحمض الجسمنك . هناك سؤال مطروح:

هل حمض السلسليك مسبب لموت الخلية أم أنه نتيجة هذا الموت ؟

الإجابة على هذا السؤال تبرز المعلومات الآتية : يمكن أن يكون حمض السلسليك ساما ، الحمض بالتركيز المناسب يحث على حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة ، فى النباتات ذات المستوى الداخلى المنخفض من الحمض (كما فى النباتات المعبرة Cnahcn لا يكون تكوين بقع النكرزة النباتية ضعيفاً ، هناك عديد من الطفرات تظهر البقع الموضعية وتجمع كميات عالية من حمض السلسليك .

حمض السلسليك ومقاومة الأمراض : لقد وجد أن المعاملة بحمض السلسليك أو الأسيتايل سلسليك آسيد تحث المقاومة النباتية وإنتاج البروتينات المتعلقة بالمرضية حتى فى غياب الكائن الممرض . الإضافة الخارجية للأسبرين تحث المقاومة فى موقع الإضافة عن طريق حث تكون البروتينات المتعلقة بالمرضية بينما الكائنات الممرضة التى تحث على تكوين هذه البروتينات جهازيا . كذلك وجد أن ٦،٢ – دايهيدروكسى بنزويك قادر على استحثاث تكوين البروتينات المتعلقة بالمرضية والمقاوم للفيروسات بدون زيادة البناء الحيوى للاثيلين . هناك حالات نادرة يعمل حمض السلسليك على تثبيط ميكانيكية معينة للمقاومة كما فى الطماطم المعاملة بجزئيات البكتيك لحمايتها من الحشرات الماصة أو القارضة . هذه الاستجابة يمكن أن تثبط عن طريق معاملة النبات بالاسبرين أو حمض السلسليك .

تطبيقات عملية لحمض السلسليك فى إحداث المقاومة الجهازية المكتسبة فى النبات :

١- إحداث مقاومة جهازية فى البسلة ضد مرض البياض الدقيقى .

٢- إحداث مقاومة جهازية فى الأرز ضد بعض الأمراض النباتية .

٣- دور حمض السلسليك فى مقاومة الفطر بيثيوم فى جذور الخيار .

٤- تأثير الظروف البيئية وحمض السلسليك والهورمونات النباتية على لفحة أوراق البسلة .

٥- مقاومة مرض اللفحة المبكرة فى الطماطم باستعمال حمض السلسليك .

الجسمونات Jasmonates

الجسمونات JA والميثايل استر لها Me JA توجد فى جميع النباتات البراقة وهى تلعب دوراً هاماً فى تمثيل النبات . تشتق من حامض لينولينيك بواسطة عملية الأكسدة الوسيطة لإنزيم ليبواكسيجينيز (Lox) وفى الثدييات تشتق من الأحماض الدهنية بواسطة إنزيم Lox وهى تتحرك بسهولة داخل النبات فى كل من الطور السائل أو الغازى . الميثيل جسمونات توجد على شكل بخار متطاير كما هو الحال مع الاثيلين . تؤثر الجسمونات على العديد من العمليات الفسيولوجية المختلفة فى النبات مثل نمو الجذور ، تكوين الدرنات ، التفاف المحاليق ، شيخوخة الأوراق وفتح الثغور . الجسمونات يمكن أن تقوم بدور وسيط لاستجابة النبات للضغوط الخارجية ومنها مهاجمة مسببات الأمراض أو الحشرات الماضغة . التركيزات الواطية من الجسمولين تحفز وتحث مثبطات إنزيم البروتينيز مثل الثيونين ، أوزمونين وبروتين جدار الخلية الغنى بالبرولين وإنزيمات أخرى داخلة فى التفاعلات الدفاعية فى النباتات مثل PAL ، Lox وكا لكون سينسيز . يمكن القول أن الجسمونات تساعد فى وقف الكائنات الدقيقة المرضية حيث تزداد عملية البناء الحيوى للجسمونات مع الإصابة المرضية . لقد ثبت أن حمض الجسمونيك ومادة ميثيل استرجسمونيك مشتقات دهون نباتية تلعب دوراً هاماً عند تجريح النباتات وتدخل فى تخليق مقاومة جهازية مكتسبة .

إذا استعمل حامض الجسمونيك ومشتق الأستر ميثيل بتركيز أعلى من ١٠٠٠ ميكروجرام / ملليلتر على النبات يسبب اصفرار فى نباتات الطماطم والبطاطس بعد ٢ - ٣ أيام من الرش والتركيزات الأعلى تخفض من نمو النباتات وتخفض من محتوى الكلوروفيلل A , B . عند الرش على سطوح الأوراق حقق الوقاية عندما يرش الفطر الممرض حيث تعتمد درجة الوقاية على تركيز الجسمونات والفترة الفاصلة بين رش المركب ورش الكائن الممرض حيث وصلت إلى ٩٢% بعد ساعتين مع تركيز ١٠٠ ميكروجرام / ملليلتر . لقد زادت نسبة الوقاية الموضعية والجهازية فى نباتات الطماطم بزيادة جرعة حمض الجسمونيك إلى ٢٥٠٠ ميكروجرام / ملليلتر ضد اللفحة المتأخرة .

السستمين Systemin

عندما تهاجم الحشرات النباتات تحدث استجابة على شكل تجمع مثبطات إنزيم البروتينيز فى الأوراق التى أضيرت وتلك التى لم تضار وهذه المثبطات تقوم بتثبيط نشاط إنزيم الحمض الموجود فى القناة الهضمية للحشرة مما يؤدى إلى سوء التغذية وخفض النمو وموت الحشرة . لقد تم عزل إشارة جهازية من الطماطم تتكون من ببتايد تكون من ١٨ حمض أمينى يسمى سستمين وتوجد بكميات ضئيلة للغاية وتحث على بناء مثبطات

الإنزيم بروتينيز . هناك مركبات أخرى مثل حمض الأبسيسيك (ABA) والجسمونات تحث إنزيم البروتينيز (Pin 2) مثبط البروتين وتعبيرات الجين . يتوزع السستمين خلال جروح الورقة خلال نصف ساعة ثم تنتقل إلى حامل الورقة والساق والأوراق العلوية خلال عدة ساعات وهى تشابه حركة السكروز وتثبط عملية الانتقال بواسطة السلفهدريد وهو مشتق حامض السلفونيك . يبنى السستمين على أساس أنه بادىء البروتين يتكون من ٢٠٠ حمض اميني . السستمين يحث نشاط إنزيم أكسدة بولى فينوليز فى أوراق نباتات الطماطم بعد الإصابة .

مركب بنزوتيادیازول Benzothiatiazole (BTH)

مما سبق أتضح مقدرة النباتات على إظهار مقاومة ضد عوامل حيوية (آفات) وأخرى غير حيوية (طبيعية وكيميائية) من خلال ميكانيكيات متعددة يمكن تنشيطها من خلال الإصابة الموضعية ويطلق على هذه الظاهرة فرط الحساسية وبعد ذلك تتحقق المقاومة الموضعية أو الجهازية المكتسبة بإنتاج عوامل المقاومة البيوكيميائية مثل الفيتوالكسينات وتكوين الكالوس واللجننة . استجابة المقاومة الجهازية المكتسبة تكون من خلال تجمع بروتينات مرتبطة بالمرضية PR's مثل بيتا – ٣,١ – جلوكانيزيس وبروتينات غنية بالسستين وأحماض السلسليك والجاسمونات والآن مادة بنزوثيادیازول (BTH) الذى يباع تجارياً تحت الاسم Bion . لقد ثبت كفاءة BTH فى الوقاية من مرض البياض الزغبى المتسبب عن الفطر بلازموبارا هيلنسى فى عباد الشمس عند معاملة التربة أو رشاً على المجموع الخضرى وعندما يضاف إليه مادة ميتالاكسيل كمعاملة تربة زادت المقاومة ضد المرض . هناك مرض اللفحة النارية فى التفاح المتسبب عن البكتريا إروينيا أميلوفورا وكانت تكافح بواسطة المضادات الحيوية مثل استربتومايسين أو مركبات النحاس ولكن تكونت سلالات مقاومة لها مما دعى العلماء إلى محاولات تخليق المقاومة الجهازية المكتسبة SAR باستخدام مركب BTH الذى أثبت كفاءة كبيرة فى تحقيق مقاومة التفاح ضد غزو هذه البكتريا .

مركب BTH ومركب Milsana

مستخلص أوراق نبات رينوتيريا ساكالينسيز يستخدما بنجاح فى إثارة نباتات الخيار الإنجليزى الطويل لمقاومة فطر البياض الدقيقى المتسبب عن الفطر سفيروثيكا فوليجينيا . هذا المركب BTH يلعب دوراً مشابهاً لحمض السلسليك فى ممر النقل الإشارى الذى يؤدى إلى تعظيم وتنشيط المقاومة الجهازية المكتسبة ويقال أن هذه المقاومة يرجع إلى زيادة تكوين الحليمات واستجابة الخلية لتفاعل فرط الحساسية . أما المركب ميلسانا وجد أنه يزيد من نسبة كل من البيروكسيديز ، بيتا – ٣,١ – جلوكانيزيس ويشكل نسبة عالية من الفينولات حيث يخلق مقاومة موضعية . لقد نجح مركب BTH فى تحفيز المقاومة

النباتية للقمح ضد مرض البياض الدقيقى المتسبب عن الفطر بلوميريا جـرامينيس وهـذا المرض قد يظهر وينتشر بشكل وبائى فى الأصناف الحساسة . عند استخدام BTH بمعدل ٣٠ جرام مادة فعالة للهكتار تتشجع وتدوم المقاومة لمدة طويلة وهو يعمل بطريقة تماثـل ما يحدثه حمض السلسليك .

مادة ٦,٢ – دايكلورو أيزونيكوتينيك آسيد (INA)

هذه المادة والمثيل استر لها يرمز إليها INA وهى تحفز مقاومـة الخيـار والأرز والعديد من المحاصيل الأخرى ضد بعـض الكائنـات الممرضـة الفطريـة والبكتيريـة والفيروسية فى الصوبات الزراعية . مركب INA يـسبب زيـادة حـث نـشاط إنـزيم ليبوكسيجينيز فى الأرز خلال يومان من الإضافة مما يحقق مقاومة ضد مـرض لفحـة الأرز . المركب نجح فى تحقيق مقاومة نباتات فول الـصويا ضـد فطـر سـكليروتينيا سفليروتيوم المسبب لمرض العفن الأبيض حيث تصل نسبة الخفض فى الإصـابة ٢٠ – ٦٠% مما يؤدى إلى زيادة الإنتاج .

مركب بابا DL – B – amino – n – butyric acid (BABA)

التركيب الكيميائى لهذا المركـب DL – 3 – aminobutyric acid وهـو يحقـق مقاومة فعالة فى نباتات الطماطم والبطاطس والدخان جهازياً ضد فطريـات الفيتوفثـورا انفستانس والبيرووسبورا . هذا المركب لا يؤثر على الفطريات فى المعمل أو فى النبـات بينما له تأثير علاجى وهو يؤثر على تحور جدار الخلية . هناك مادة قريبة الشبه بمركب BABA من مشتق حامض بيوتانويك تحث على مقاومة الطماطم ضد مـرض البيـاض الزغبى . لقد تأكد أن نباتات الفلفل المحقونة بعزلة غير شـديدة المرضـية مـن الفطـر فيتوفثورا كابسيكى أو المعاملة بمركب BABA تجعل النباتات قوية وتقاوم الإصابة التالية بسلالة الكائن الممرض شديد المرضية . تختلف مستويات المقاومة تبعاً لطبيعـة مـشابه حمض الأمينوبيوتيريك والتركيز المستخدم وطريقة الاستخدام ومراحل نمو النبات وكثافة اللقاح . لقد ظهر أن تجمع البروتينات المتعلقة بالمرضية مثل بيتـا – ٣,١ – جلوكـانيز والكيتسنيزيس والمستوى الداخلى لحمض السلسليك كلها تتدخل فى تخليق مقاومـة ضـد لفحة فيتوفثورا فى نبات الفلفل المعامل بمركب BABA .

يتسبب مرض البياض الزغبى فى عباد الشمس عن الفطر بلازموبارا هيليانسى وقد استعملت المركبات الثلاثة لمـشتقات حـامض الأمينوبيوتيريـك , GABA , BABA AABA فى حث المقاومة النباتية ضد هذا المرض . لم يثبت أن لهذه الكيميائيات سـمية على الفطر الممرض أو النبات عندما تستعمل بتركيز ٢٠٠ ملليجرام / كيلـوجرام تربـة وعند زيادة التركيز إلى ٣٠٠ مللجم / كجم تربة سبب اصفرار خفيف فى الأوراق وحدث

تقزم فى النبات عن المقارنة . أحدث مركب BABA زيادة معنوية فى مقاومة المـرض بنسبة ٨٣% . المركب هذا فعال فى حماية نباتات عباد الشمس ضـد الإصـابة بـالفطر الممرض عندما تستعمل فى التربة قبل يوم واحد من الحقن بالكائن الممرض فقـد حقـق وقاية بنسبة ٨١% . يعتبر فطر البياض الزغبى فى عباد الشمس نموذجـاً مناسـباً جـداً لدراسة التفاعل بين الكائن الممرض والميكورهيزا .

مركب رايبوفلافين Riboflavin

عبارة عن فيتامين ينتج بواسطة النباتات والميكروبات وهو يعمل كإنزيم مرافق فـى كثير من العمليات الفسيولوجية فى النبات والحيوان والميكروبات . يتدخل الرايبوفلافين فى نظام مضادات الأكسدة والأكسدة الفائقة وهما العمليتان اللتان تؤثران على إنتاج الأكسجين المتفاعل الوسيط فى الجهد المؤكسد وما ينتج عنه من تفاعل فرط الحساسة . الرايبوفلافين مادة مثيرة تهيج النباتات لتكوين مقاومة جهازية مكتسبة كما قد يكون له دور فـى نقـل إشارة المقاومة . عندما يرش على المجموع الخضرى يحفز المقاومة ضـد كثيـر مـن الأمراض التى تصيب نباتات الدخان ويخفض الإصابة بمرض البياض الدقيقى فى نباتات الفراولة عندما يتحد مع المثيونين أو الأيونات المعدنية أو المطهرات السطحية . المركـب يشجع جينات البروتينات المتعلقة بالمرضية PR's فى نباتات الـدخان ويخلـق مقاومـة جهازية ضد بيروسبورا باراسيتكا ، بسيدوموناس سيريخيا ، الترناريا الترناتا ، فيـروس موزايك الدخان TMV . التأثير المنبه لمركب رايبوفلافين يتطلـب بـروتين كينيـزيس والفعل المنظم بواسطة جين NIM / NPI ولكن لا يتطلب تجمع حمض السلسليك .

لقد أتضح أن الريبوفلافين ليس له تأثير مثبط على نمو الكائنات الحية الدقيقة سـواء كانت فطريات أو بكتريا كما أنه غير سام على النباتات الراقيـة . أكـدت العديـد مـن الدراسات أن الرايبوفلافين يحث وينبه المقاومة الجهازية فى العديد من النباتات ضد العديد من الممرضات النباتية . المقاومة المستحثة بالرايبوفلافين ليست متخصصة علـى نبـات معين أو كائن ممرض معين ولكن ضد مدى واسع من النباتات والأمراض .

حامض الأكساليك Oxalic acid

لقد سبق القول أن المقاومة الجهازية التى تظهر فى النبات تعتمد على عدة ممـرات دفاعية منها : اللجنين ، بروتينات متعلقة بالمرضية ، فيتوالكسينات ، بروتينات صـغيرة مضادة للميكروبات مثل الثيونينات والدفنسينات . كذلك أشرنا إلى وجود جزيئات كبيـرة مثل حمض السلسليك وحمض الجسمونيك والاثيلين تدخل فى تفاعل المقاومـة الجهازيـة المكتسبة . هناك ممرين ناقلين للإشارة الحاثة على المقاومة الأول يعتمد علـى حمـض السلسليك وممر مستقل عن حمض السلسليك . يمكن أن يحدث تخليق للمقاومة الجهازيـة فى المحاصيل عن طريق الإضافات الخارجية لمواد حاثة كيميائية مثل ميثيل جـسمونات

وهى تماثل فى عملها حمض السلسليك و BTH وحمض INA . أدت صعوبات مكافحة مرض عفن الساق فى اللفت المتسبب عن فطر سكليروتينا سكلير وشيوم الكامن فى التربة سواء بالمبيدات الفطرية أو الدورة الزراعية إلى الاتجاه نحو اقتــراب تحفيــز المقاومــة الجهازية المكتسبة بكيميائيات أخرى مثل حامض الاكساليك . أدت معاملة الأوراق السفلية لنبات اللفت بحمض الاكساليك بتركيز ٢٠ ملليمول إلى خلق مقاومة جهازية ضد مــرض العفن الأبيض فى الأوراق التالية والساق . لقد اكتسبت نباتــات الكوســة مقاومــة ضــد الإصابة بفيروس موزايك الخيار عند معاملة البذور بحــامض الاكــساليك بتركيــز ١٠ ملليمول .

مواد كيميائية أخرى تحقق حدوث مقاومة نباتية ضد العديد من الأمراض

- مادة DCP ذات التركيب ٢،٢ – دايكلــورو – ٣،٣ – دايمثيــل ســيكلوبروبان كربوكسيليك آسيد وصف فى البداية على أنه مركب متخــصص فــى مقاومــة مرض لفحة الأرز وهو يحث بعض نشاط البيروكسيديز فى النباتات المعاملة بعد الإصابة فإن النباتات المعاملة بمركب DCP تتجمع منها فيتوالكــسينيز تــسمى مونيلا كتون . كذلك فإن مركب DCP له تأثير على عملية تكوين الميلانين .

- مركب فــوس اثيــل – آل Fosethyl – AL هــذا المركــب والميثالكــسايل والترايازولات من بين المواد التى تشجع تكوين المقاومة الجهازية المكتسبة فــى النباتات . النباتات المعاملة مسبقاً بهذه المادة تجمع فيها الفيتوالكسينات بــسرعة وتقل فاعلية المثبطات الخاصة بعمليات التمثيل مثل الجليفوسات . لقد أظهــرت الأبحاث أن هذا المركب يتحطم إلى حمض الفوســفوريك ذات الكفــاءة العاليــة كمضاد فطرى .

- مركب بروبينازول والاسم التجارى له هو أويزيمات يستخدم ضــد لفحــة الأرز وهو يقوى الدفاعات بعد المهاجمة بالفطر مجنابورث جريزيــا . عنــد معاملــة أصناف الأرز القابلة للإصابة بهذا الممرض تتصرف النباتات وكأنهــا تحمــل الجين الرئيسى للمقاومة . البروبينازول مركب جهازى يستخدم بنجــاح لوقايــة الأرز ضد الإصابة بفطر بريكيولاريا أوريزيا . يحث البروبينازول العديد مــن إنزيمات الدفاع النباتية ويسبب تجمعات معنوية لعوامل مــضادات الكونيــديات (مواد سامة فطرية أو أحماض دهنية غير مشبعة تشمل حامض اللينولينيك) .

- مادة DCINA مقاومة لمرض جرب التفاح المتــسبب عــن الفطــر فينتوريــا إناكواليس الذى يظهر بشكل وبائى فى العديد من بلدان العالم . تتدخل المقاومــة المكتسبة فى جميع مراحل الإصابة باستثناء إنبات الجراثيم الكونيديــة وتكــوين

أعضاء الالتصاق بينما تأثرت عملية إنشاء الوسادة الهيفية بعد اختراق الكيوتيكل بالمقاومة المكتسبة .

حمض الأرشيدونك (AA)

حمض دهنى رئيسى فى الغشاء الخلوى الميسليومى وجراثيم الكائن الممرض . من المحتمل أن يعمل AA كمضاد فطرى طبيعى يحث على تكوين الفيتوالكسين . لقد تم الحصول على مقاومة فى البطاطس عندما عوملت الأوراق بتحضيرات جدر خلوية من الفطر P. infestans تحتوى على AA والحمض الدهنى القريب منه (EAA) ذات التركيب Eicosapentaenoic . المعاملة بحمض AA تقي نباتات البطاطس من مرض اللفحة المبكرة المتسبب عن الفطر الترناريا سولانى .

إحداث مقاومة لبكتريا العفن الطرى فى البطاطس عن طريق استخدام بعض الحاثات أو المثيرات . يحدث هذا العفن فقد اقتصادى كبير فى درنات البطاطس فى المخزن أى بعد الجمع والمرض يتسبب عن البكتريا إروينيا كارو توفورا أتروسيبتكا . لابد من وجود جروح على الدرنة حتى تستطيع البكتريا اختراقها . المثيرات التى تحدث مقاومة فى نباتات البطاطس من الأصناف الحساسة لهذا المرض فى الحقل هى جسمنك آسيد (JA) والمثيل استر لهذا الحمض (Me JA) عندما تستخدم رشاً على المجموع الخضرى حيث تحث على تخليق مقاومة موضعية وجهازية لهذا الفطر P. infestans كما أن استخدام مكونات الجدار الخلوى لهذا الفطر تخلق مقاومة جهازية فى البطاطس .

المقاومة الجهازية المكتسبة عن طريق الكائنات الحية الدقيقة

لقد سبق القول أن المقاومة الجهازية المكتسبة يمكن أن يخلق بواسطة مواد كيميائية وكذلك الأحياء الدقيقة . من الأمثلة المعروفة عن المقاومة بالكائنات الدقيقة أمراض البياض الدقيقى . يتسبب البياض الدقيقى فى العنب عن الفطر Uncinula npcator واسع الانتشار فى العالم يهاجم الأزهار والعناقيد والأوراق والسيقان والثمار ويسبب فقد كبير فى المحصول . لقد وجد أن الحقن المسبق لنباتات العنب بفطر البياض الزغبى بلازموبارا فيتيكولا يحدث مقاومة ضد الإصابة بفطر البياض الدقيقى . يتسبب مرض البياض الدقيقى

فى الخيار عن الفطر سفيروثيكا فوليجينيا حيث يهاجم النباتات النامية فى كل من الحقل والصوب وتعتمد مكافحته على استخدام المبيدات الفطرية . يمكن أن تستحث المقاومة الجهازية ضد الأمراض النباتية المختلفة عن طريق رش الأوراق السفلية من نبات الخيار بمحلول أملاح الاكسالات أو الفوسفات . كذلك وجد ان حقن الأوراق السفلية لنبات الخيار بعوامل حيوية مثل كائنات مرضية ضعيفة أو كائنات ممرضة شديدة القوة المرضية والتى تسبب بقع موضعية محدودة تخلق مقاومة جهازية مكتسبة ضد مدى واسع من الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية والفيروسية . حقن الورقتين الأوليتين من نبات الخيار بمعلق جراثيم عزلة الترناريا توكومارينا غير الممرض أو الفطر كلادوسبوريوم جولفوم مثل حقنها بالكائن الممرض المسبب للبياض الدقيقى يخلق مقاومة جهازية لهذا المرض على الأوراق من الثانية حتى الخامسة . أمكن تحقيق وقاية لنباتات الطماطم من الإصابة باللفحة المتأخرة باستعمال فيروس نكروز الدخان . كذلك أمكن وقاية الطماطم من مرض ذبول الفيوزاريوم باستعمال الفطر بنيسيليوم أوكساليكم (الجدول ١-٣) .

جدول (١-٣) : نموذج للكائنات الحية الدقيقة الحاثة على كل من المقاومة الجهازية المكتسبة أو المستحثة والكائنات الممرضة التى تظهر ضدها المقاومة

Plant	Inducer organim	SAR	ISR	Systemic protection aginst	SAR genes
Alfalfa	*Colletorichum Lindemuthiaum*	+		*Colletorichum Lindemuthiaum*	NR
Arabido-psis	*Turnip crinkle virus*	+		*Pseudomonas syringae*	PR-1,PR-2
	Pseudomonas syringae			*Turnip crinkle virus*	
	Fusarium oxsporum			*Pseudomonas syringae*	
				Peronospra parusitica	
	Pseuomonas fluorescens		+	*Fusarium oxysporum f..sp. rophani*	Absent

	WCS 417			*Pseudomonas syringae pv tomato*	
Asparagus bean	*Tobacco necrosis virus*	+		*Tobacco necrosis virus*	NR
Barley	*Tobacco rattle virus*				
Bean*	*Erysiphe graminis f.sp. hordei*	+		*Erysiphe graminis f.sp. hordei*	NR
	Colletorichum Lindemuthiaum	+		*Colletorichum Lindemuthiaum*	NR
	Colletotrichum Lagenarium			*TNV*	

NR : not recorded* : SAR experiments with field tests were performed with these plants.

المراجع العامة

Abdel-Aziz, N.A., 1999. Effects of chemical and heat treatments of seeds on squash infection by cucumber moasaic virus. Assiut J. of Agric. sci, 30, 4: 193-206.

Anfoka, G. and H. Buchenauer. 1997. Systemic acquired resistance in tomato against Phytophthora infestans by pre-inoculation with tobacco necrosis virus. Physiology and Molecular Plant Pathology, 50: 85-101.

Brisset, M.M., et al., 2000. Acibenzolar-S-methyl induces the accumulation of defense – related enzymes in apple and protects from fire blight. European J. of Plant Pathology, 106: 529-536.

Chen, C., et al., 1999. Role of salicylic acid in systemic resistance induced by Pseudomonas sp. against Pythium aphanidermatum in cuculber roots. European J. of Plant Pathology, 105: 477-486.

Coquoz, J.L., et al., 1995. Archidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicyclic acid and confers systemic resistance in potato plants to Phytophthora infestans and Alternaria solani. Phytopathology, 85: 1219-1224.

Dann, E., et al., 1998. Effects of treating soybean with INA and BTH on seed yields and the level of disease caused by Sclerotinia sclerotiorum in field and greenhouse studies. European J. of Plant Pathology, 104: 271-278.

Dong, H. and S. Beer. 2000. Riboflavin induces disease resistance in plants by activating a novel signal transduction pathway Phytopathology, 90: 801-811.

Dutton, M.V., et al., 1997. Induced resistance to Erwinia carotovora f.sp. atroseptica, through the treatment of surface wounds of potato tubers with elicitors. J. Phytopathology, 145, 163-169.

Gahalain, N., et al., 1999. Effect of environmental conditions, salicyclic acid and phytohormones on pea leaf blight. Indian Phytopath., 52(3): 270-273.

Geert, D.M. and M. Hofte. 1997. Salicylic acid produced by the rhizobacterium Pseudomonas aeruginosa 7WSK2 induces resistance to leaf infection by Botrytic cinerea on bean. Phytopagthology, 87: 588-593.

Jeun, Y.C., et al., 2000. Biochemical and cytological studies on mechanisms of systemically induced resistance to Phytophthora infestans in tomato plants. J. phytopathology, 148: 129-140.

Purkayastha, R.P. 1998. Disease resistance and induced immunity in plants. Indian Phytopath, 51(3): 211-221.

Raskin, I. 1992. Role of salicyclic acid in plants. Annu. Rev. plant. Physiol. Plant Mol. Boil., 43: 439-463.

Ryals, J.A., et al. 1996. Systemic Acquired resistance. The Plant Cell,, 8: 1809-1819.

Ryals, J., S., Uknes and E. Ward. 1994. Systemic Acquired Resistance. Plant Physiology, 104: 1109-1112.

Reuveni, M. 1999. Resistance to powdery mildew in grapevine induced by Plasmopara viticola. Can. J. plant. Pathology, 21: 272-275.

Silverman, P., et al., 1995. Salicylic acid in rice. Plant Physiology, 108: 633-639.

Schweizer, P., et al., 1999. Different patterns of host genes are induced in rice by P.syringae, a biological inducer of resistance and the chemical inducer BTH. European J. of Plant Pathology, 105: 659-665.

Ton, J., et al., 2001. Heritability of rhizobacteria – mediated induced systemic resistance and basal resistance in Arabidopsis. European J. of Plant Pathology, 107: 63-68.

Tosi, L. and A. Zazzerini. 2000. Interactions between Plasmopara helianthi, Glomus mosseae and two plant activators in sunflower plants. European J. of Plant Pathology, 106: 735-744.

Ward, E., et al., 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. Ann. Rev. phytopathol. 32: 439-459.

Wurms, K., et al., 1999. Effects of milsana and benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria on cucumber. Phytopathology, 89: 728-736.

Xue, L., et al. 1998. Systemic induction of peroxidases, 1, 3-B-Glucanases, chitinases, and resistance in bean plants by binucleate Rhizoctonia species. Phytopathology, 88: 359-365.

Zhou, T. and T.C. Paulitz. 1994. Induced resistance in the biocontrol of Pythium aphanidermatum by Pseudomonas sp. on cucumber. J. Phytopathology, 142:51-63.

مراجع خاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية :

Van Loon, L.C., Pierpoint, W.S., Boller, T. and Conejero, V. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis – related proteins. Plant Mol. Biol. Reporter 12: 245-264.

Van loon, L.C. and Van Strein, E.a. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiol. Mol. Plant Pathol. 55: 85-97.

رابعاً : المقاومة الجهازية المستحثة :

Induced sysbemic resiatance (ISR)

المقاومة الجهازية المستحثة تحدث تحت تأثير أو استحثاث النبات بواسطة أنواع من الريزوبكتريا وليس لحمض السلسليك تعبير إشارى فى هذه المقاومة وإنما تعتمد على إشارية أخرى أهمها حامض الجسمنك والاثيلين كما لا يوجد دور للبروتينات المتعلقة بالمرضية دور فى هذه المقاومة . لقد سبق القول أن هناك طريقتان للحصول على المقاومة المتخلقة فى النبات . الأولى تعرف بالطريقة الكلاسيكية عن طريق الإصابة المسبقة بالكائنات الممرضة المسببة للتكرزة مؤدية إلى مقاومة جهازية فى الأجزاء البعيدة من النبات وهذا يطلق عليه المقاومة الجهازية المكتسبة SAR وتتميز بزيادة تجمعات حامض السلسليك وتكون دائماً مصاحبة بتعبيرات لتشفير الجينات الخاصة بالبروتينات المتعلقة بالمرضية . النوع الثانى يتكشف استجابة لاستعمار جذور النبات ببعض سلالات معينة من الرايزوبكتريا غير الممرضة وهذا هو نوع المقاومة الذى نحن بصدده الآن ويعرف بالمقاومة الجهازية المستحثة (ISR) . هذا النوع من المقاومة فعال فى مجموعة مختلفة من النباتات تحت الظروف التى تبقى فيها الرايزوبكتريا منفصلة مكانياً عن الكائن الممرض الذى تتخلق ضده هذه المقاومة . من أكثر النباتات التى أجريت عليها دراسات ISR هو نبات الأرابيدوبسز .

تتواجد بكتريا الريزوسفير بأعداد كبيرة على سطوح جذور أنواع كثيرة من النباتات حيث أن الجذور أو فضلاتها تزودها بالمواد الغذائية عن طريق إفرازات الجذور . هناك سلالات معينة من البكتريا تتواجد فى منطقة الريزوسفير تسمى البكتريا المشجعة لنمو النبات (PG PR) . عند إضافة هذه البكتريا إلى جذور النبات فإنها تشجع النمو وتحسن من مقدرته على تحمل الظروف القاسية وزيادة تكاثر الريزوبكتريا مما يقلل من الأضرار الناشئة من الكائنات الضارة . تعتبر البكتريا الضوئية من أنواع بسيدوموناس من أكثر أنواع الريزوسفير فعالية فى خفض الأمراض الكامنة فى التربة وفى الأراضى الكاتبة للأمراض بالرغم من وجود الكائنات الممرضة . تحدث هذه البكتريا دورها من خلال

ميكانيكيات متعددة فمثلاً السايدروفور البكتيرى يثبط الكائنات الممرضة للنباتات عن طريق المنافسة على الحديد .

يمكن تحقيق المقاومة الجهازية ضد الكائنات الممرضة للجذر عن طريق إضافة البكتريا الحاثة على واحد من أجزاء النظام الجذرى ويضاف الفطر الممرض على جزء آخر من الجذر كما يمكن إتباع طريقة الجذر المشقوق . وقاية المجموع الخضرى من الإصابة بالكائنات الممرضة أسهل عن وقاية المجموع الجذرى . إن إضافة الريزوبكتريا إلى البذور أو التربة التى تزرع فيها أو تنقل إليها البادرات يمكن أن تتحرك وتنتقل داخلياً فى نسيج الأجزاء النباتية الهوائية . الجدول (١-٤) يوضح السلالات البكتيرية التى تحدث المقاومة الجهازية المستحثة وأنواع النباتات التى تحدث فيها .

جدول (١-٤) : بعض السلالات البكتيرية المسئولة عن المقاومة الجهازية المستحثة

Plant species	**Bacterial strain**	**Challenging pathogen**	**Diseae symptoms**
Arabiopsis	*Pseudomonas fluorescens WCS417*	*Fusarium oxysporum f.sp. raphani*	Vascular wilt
		Pseudomonas syringae pv. Tomato	Bacterial speck
		Peronospora parasitica	Downy mildew
	Pseudomonas putida WCS358	*Fusarium oxsporum f.sp. raphau*	Vascular wilt
		Pseudomonas syringae pv. Tomato	Bacterial speck
Brsn	*Pseudomonas aeruginasa 7NSK2*	*Botrytis cinerea*	Gray mold
		Colletotrichum lindemuthiaum	Anthracnose
	Psendomonas	*Pseudomonas*	Halo blight

	fluorescens S97	*syringae pv. Phaseolicola*	
Camation	*Pseudomonas fluorescens WCS417*	*Fusarium oxsporum f.sp. raphani*	Vascular wilt
Cucumber	*Pseeudomonas aureofaciens 25-33*	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose

تابع جدول (١-٤) : بعض السلالات البكتيرية المسئولة عن المقاومة الجهازية المستحثة

Plant species	Bacterial strain	Challenging pathogen	Diseae symptoms
	Pseudomonaas aureofaciens 28-9	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pseudomonaas aureofaciens 36-5	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Pesudomonas corrugate 13	*Pythium aphanidermatum*	Crown rot
	Peudomonas fluorescens C15	*Phthium aphanidermatum*	Crown rot
	Peudomonas fluorescens G 8-4	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Peudomonas putida 34-13	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Peudomonas putida 89B-27	*Acalynna vitatum*	Herbivory
	Peudomonas putida 89B-27	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Peudomonas putida 89B-27	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
	Peudomonas	*Diabrotica*	Herbivory

	putida 89B-27	*undecimpunctata*	
	Peudomonas putida 89B-27	*Ervinia tracheiphila*	Bacterial wilt
	Peudomonas putida 89B-27	*Fusarium oxysporumf.sp. lachrymans*	Angular leaf spot
	Peudomonas putida 89B-27	*Fusarium oxysporumf.sp. cucumerinum*	Vascular wilt

تابع جدول (١-٤) : بعض السلالات البكتيرية المسئولة عن المقاومة الجهازية المستحثة

Plant species	**Bacterial strain**	**Challenging pathogen**	**Diseae symptoms**
	Serraia marcescens 90 – 166	*Acalymna vitatum*	Herbivory
	Serraia marcescens 90 – 166	*Colletotrichum orbiculare*	Anthracnose
	Serraia marcescens 90 – 166	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
	Serraia marcescens 90 – 166	*Diabrotica undecimpunctata*	Herbivory
	Serraia marcescens 90 – 166	*Erivinia tracheiphila*	Bacterial wilt
	Serraia marcescens 90 – 166	*Fusarium oxysporumf.sp. lachrymans*	Angular leaf spot
	Serraia marcescens 90 –	*Fusarium oxysporumf.sp.*	Vascular wilt

	166	*cucumerinum*	
	Serratia plymutlica 2-97	*Colletotrichum orbiculare*	Anthraconse
Radish	*Pseudomonas fluorescens WCS374*	*Fusarium oxsporum f.sp.ruphani*	Vascular wilt
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Altemaria brassicicola*	Necrotic lesions

تابع جدول (١-٤) : بعض السلالات البكتيرية المسئولة عن المقاومة الجهازية المستحثة

Plant species	**Bacterial strain**	**Challenging pathogen**	**Diseae symptoms**
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Fusarium oxysporum*	Necrotic lesions
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Fusarium oxsporum f.sp.ruphani*	Vascular wilt
	Pseudomonas fluorescens WCS417	*Pseudomonas syringae pv. Tomato*	Necrotic lesions
Tobacco	*Pseudomonas aeruginosa 7NSK2*	*Tobacco mosaic virus*	Necrotic lesions
	Pseudomonas fluorescens CHAO	*Thielaviopsis basicola*	Black root rot
	Pseudomonas fluorescens CHAO	*Tobacco necrosis*	Necrotic lesions
	Serratia marcescens 90-166	*Pseudomonas syringae pv. Tabaci*	Wildfre
Tomato	*Pseudomonas fluorescens*	*Fusarium oxsporum*	Vascular wilt

WCS417	*f.sp.lycopersici*	
Peudomonas putida 89B-27	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic
Serratia marcescens 90-166	*Cucumber mosaic virus*	Systemic mosaic

هناك مقاييس تخليق المقاومة الجهازية المستحثة (ISR)

لقد وضعت معايير للتأكد من حدوث المقاومة ISR وتمييزها عن SAR .

١- غياب التأثيرات السامة للعامل الحاث على الكائن الممرض المقصود : تستبعد هذه الصفة أية تأثيرات مضادة مباشرة لنواتج التمثيل الفسيولوجى للكائن الحاث على الكائن الممرض خاصة مع المضادات الحيوية المنتجة بكتيريا . بعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الرايزوبكتيريا مثل DAP أو PCA تكون سامة للنباتات إذا استخدمت بتركيزات عالية ويمكن أن تحث ISR بنفس الطريقة التى يسبب منها الكائن الممرض نكروز موضوعى .

٢- كبح شدة المقاومة المستحثة بالاستعمال المسبق لمثبطات متخصصة تؤثر على جين التعبير فى النبات : إذا حدث تثبيط المقاومة المستحثة بواسطة مواد متخصصة مثل اكتينومايسين D (AMD) تكون هذه المقاومة مستحثة بالرايزوبكتريا .

٣- ضرورة وجود فترة زمنية فاصلة بين استعمال العامل الحاث وبداية حصول الوقاية فى النبات : أظهرت الدراسات أنه بشكل عام لكى تزداد الكفاءة الدفاعية فى النبات يحتاج من بضعة أيام إلى أسبوع لكى تتكشف كل من SAR أو ISR.

٤- عدم المقدرة على تحديد الجرعة النموذجية للحصول على استجابة كاملة : تستحث المقاومة عندما تحقن النباتات بجرعة من البكتريا تتجاوز الحجم المطلوب لإحداث بداية تكوين المستعمرة ولا يوجد دليل يشير إلى زيادة المقاومة عندما تزداد الجرعة البكتيرية أكثر من هذا الحجم . عندما تتكون المقاومة الجهازية المستحثة فإنها غالباً ما تستمر طول فترة حياة النبات ولو أن مستوى المقاومة يظهر نقصاً مع تقدم النمو .

٥- عدم تخصص الوقاية : المقاومة المستحثة بواسطة بسيدوموناس فلوريسنس فى الفجل فعالة ضد ذبول الفيوزاريوم وتخفض من تكوين بقع النكروز المتسببة عن

الكائن الممرض البكتيرى غير شديد المرضية بسيدوموناس سـيريخيا والكـائن الفطرى الترناريا براسيكولا .

٦- تكوين المقاومة جهازية وموضعية : الوقاية المستحثة ليست بالضرورة أن تكون جهازية . وجود الرايزوبكتريا الحاثة على المقاومة يجعل هذه المقاومة جهازية ومستمرة .

٧- الاعتماد على الطرز الوراثى (Genotype) في النبات : المعلومات المتـوفرة عن هذا الموضوع قليلة. هذه الصفة تفترض وجود اختلافات معنوية فى مستوى ونوع المقاومة فى أنواع النباتات المختلفة .

المحددات البكتيرية للمقاومة الجهازية المستحثة (جدول ١ – ٥)

جدول (١-٥) : المحددات البكتيرية وأنواع النباتات والسلالات البكتيرية الداخلة فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة .

Bacterial strain	Plant pecies : bacterial determinnt	Type
Pesudomonas aeruginos		
Strain 7NSK2	Tobacco : salicylic acid	SAR
	Bean : salicylic acid	SAR
Pseudomonas fluorescens		
CHAO	Tobacco : siderophore	SAR
WCS 374	Radish : lipopolyacchride siderophore	ISR
	Iron – regulated factor	
WCS 417	Carnation : lipopolysccharide	ISR
	Rasish : lipopolysaccharide ironregulated factor	ISR
	Arabidopsis : lipopolysaccharide	
Pseudomonas putide		ISR

WCS 358	Arabidopsis : lipopolysaccharide siderophore	ISR

١- **عديدات التسكر الدهنية Lipopoly saccharid (LSP)** : أظهرت الدراسات أن البكتريا المقتولة حرارياً من سلالة بسيدوموناس فلوريسنسيز WCS 417 أو الغشاء الدهنى عديد التسكر البكتيرى الخارجى النقى يحث مقاومة القرنفل ضد مرض ذبول الفيوزاريوم . تشارك عديدات التسكر الدهنية فى نمو وبقاء البكتريا فى النبات بعدة طرق مثل : المساعدة فى الاستيطان وتكوين المستعمرات ، خلق ظروف بيئية مناسبة ، تعمل كحاجز أو عائق ضد المركبات الدفاعية فى النبات ، لها تأثير على تغيير أو تعديل تفاعلات العائل .

٢- **السايدروفورز Siderophores** : هناك عامل محدد أو محددات بكتيرية تبدى أثرها فقط تحت ظروف توفر كمية قليلة من الحديد . وجد أن السلسلة الجانبية لمضادات الجينات الأكسجينية O-antigenic لمادة عديدات التسكر الدهنية تعتبر أكبر محدد للمقاومة الجهازية المستحثة .

٣- **حمض السلسليك** : ينظر لهذا الحامض على أنه سايدروفور مع المقاومة المستحثة المكتسبة . لقد تناولنا فيما سبق تداخل حمض السلسليك بين المقاومتين المكتسبة SAR والحاثة ISR . هناك عديد من الأنواع البكتيرية الحاثة على المقاومة يمكن أن تنتج حمض السلسليك على أنه سايدروفورز تحت ظروف محددة للحديد فى المزرعة .

الحالة المستحثة فى النبات Induced state in plant

١- المقاومة الجهازية المستحثة وعلاقتها بالبروتينات المتعلقة بالمرضية : لقد ثبت عدم دخول البروتينات المتعلقة بالمرضية فى المقاومة الجهازية المستحثة مما يدل على عدم وجود تعبير لجين هذه البروتينات فى نباتات الفجل المعاملة . هذا يدل على أن ميكانيكية المقاومة المخلقة بواسطة السلالة WCS 374 يختلف عن المقاومة الجهازية المكتسبة SAR .

٢- التغيرات فى تمثيل الفاتيو الكسينيز أو المثبطات تكون غير منتظمة : تعتمد الزيادة فى الكفاءة الدفاعية فى النبات والتى تظهر على شكل مقاومة جهازية مستحثة ISR على وجود مستويات عالية من المركبات التى تثبط الكائنات الممرضة النباتية مثل الفيتوالكسينز كما فى مقاومة القرنفل لمرض ذبول الفيوزاريوم من نوع الجين المتعدد . لقد وجد أن عامل عديد التسكر الدهنى LPS يعمل كعامل محدد قوى للمقاومة ISR فى الفجل .

٣- التغيرات التركيبية : لقد وجد أن نبات الفجل الذى حدث فيه مقاومة جهازية مستحثة ضد ذبول الفيوزاريوم قد عبر عنها بشكل أولى على خفض واضح فى النسبة المئوية للنباتات المريضة وهذا راجع إلى فشل الكائن الممرض فى الوصول واستعمار النسيج الوعائى . هذه الإعاقة يمكن أن تشمل تغيرات خلوية فى خلايا البشرة والقشرة والتى تؤدى إلى تثبيط أكبر فى عملية تكوين المستعمرات .

خامساً : المقاومة الجهازية المستحثة الناتجة بواسطة الرايزوبكتريا (تنبيه - تأشير - تعبير) :

لقد سبق القول أن النباتات تمتلك أساليب دفاعية مستحثة مختلفة حتى تتمكن من حماية نفسها ضد مهاجمة الكائنات الممرضة . كذلك تم تناول ما أتفق عليه بالمقاومة المستحثة للمرض حيوياً حيث تنشط المقاومة فى النبات بعد الإصابة بكائن ممرض بسبب نكرزة حيث تحدث مقاومة فى أجزاء النبات غير المصابة كذلك وقد اتفق على أن هذه المقاومة هى المقاومة الجهازية المكتسبة SAR . تتصف هذه المقاومة بحدوث زيادة مبكرة فى البناء الداخلى لحمض السلسليك وحدوث تشجيع للجينات المشفرة للبروتينات المتعلقة بالمرضية .

لقد ذكر قبلاً أن هناك سلالات معينة من بكتريا الرايزوسفير تشجع نمو النبات وأطلق عليها الرايزوبكتريا المشجعة لنمو النبات (PGPR) يوجد كذلك سلالات بكتريا عزلت من التربة الكابحة للمرض طبيعياً أطلق عليها البكتريا الضوئية من أنواع بسيدوموناس . هناك ما يعرف بالمقاومة الجهازية المستحثة بواسطة الرايزوكتونيا ISR) (كما فى الفاصوليا والقرنفل والخيار والفجل والدخان والطماطم . لقد درس هذا الموضوع بتوسع فى نبات الأرابدوبسز حيث أظهر مقاومة ضد مجال واسع من الكائنات الممرضة النباتية الفطرية والبكتيرية والفيروسية .

١- التنبيه **Triggering**

١-١- المشجعات المختلفة للمقاومة الجهازية المستحثة : تعتمد إثارة المقاومة المستحثة بالرايزوبكتريا على اتحاد العائل مع الرايزوبكتيريوم . السلالات البكتيرية تسلك سلوكاً مختلفاً على أنواع النباتات المختلفة . الجدول (١-٦) يوضح بأن هناك صفات خاصة متميزة بين النبات والرايزوبكتريا الحاثة على المقاومة الجهازية المستحثة يجب توافرها أولاً (أو هى مطلوبة) لتخليق ISR وأن هذه المقاومة تكون محددة وراثياً . يوضح هذا الجدول استجابة الأنواع المختلفة من نبات الارابدوبسز للمقاومتين SAR , ISR .

جدول (١-٦) : يبين استجابة الأنواع المختلفة من الأرابدوبسز للمقاومتين SAR , ISR

Genotype	Phenotype	ISR	SAR
Ecotypes			
Columbia	Wild – type	+	+
Landsberg erecta	Wild – type	+	+
RLD	Wild – type	-	+
Wassilewskija	Wild – type	-	+
Weiningen	Wild – type	+	+
C 24	Wild – type	+	+
Cape Verd. Islands	Wild – type	+	+
Shahdara	Wild – type	+	+
Kashmir	Wild – type	+	+
Renkum	Wild – type	+	+
Dijon		+	+
Mutnts / transgenics[2]			
SA related			
NahG	SA deficient	+	-
Sid 1 – 1	SA deficient	+	-
Sid 2-1	SA deficient	+	-
Npr 1-1	SA deficient	-	-
	Non – expressor of PR genes		
Cpr 1-1	SA overproducer ; constitutive expressor of PR genes	++	+

تابع : جدول (١-٦) : يبين استجابة الأنواع المختلفة من الأرابدوبسز للمقاومتين SAR , ISR

Genotype	Phenotype	ISR	SAR
JA related			
Jar 1-1	Affected in JA response	-	+
S -12	Lox2 co- suppressor ; no induced JA Levels	+	+
Ethylene related			
Etr 1-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 2-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 3-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 4-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 5-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 6-1	Ethylene insensitive	-	+
Ein 7-1	Ethylene insensitive	-	+
Eir 1-1	Ethylene insensitive in the roots only	- / +	+

١-٢- المحددات البكتيرية الداخلة فـى إشـارة المقاومـة المـستحثة فـى نبـات الأرابدوبسز: لقد أتضح أن التحضيرات النقية من عديدى الـسكريات الدهنيـة (LPS) وتحضيرات جدار الخلية المحتوية LPS من السلالة WCS 417r تكون فعالة فى تخليق المقاومة الجهازية المستحثة كما فى حالة البكتريا المذكورة عندما تكون حية . فى الفجـل حيث يتم تنبيه المقاومة الجهازية المستحثة بواسطة السلالة WCS 417r أفترض أن هناك محددات إضافية وهى توفر الحديد بتركيز منخفض وفى سلالة أخرى WCS 358 r فإن المحددات البكتيرية تنظيم الحديد عبارة عن سايدرفور نوع من البكتين الكاذب لهذه السلالة الطفرة التى ينتقيها البناء الحيوى لهذا السايدروفور تكون غير قادرة على تخليق المقاومة .

٢- التأشير أو إصدار الإشارات Signalling

٢-١- الممر الإشارى الجديد الذى ينظم المقاومة الجهازية المستحثة فى الأرابدوبسز: لقد سبق القول أن المقاومة الجهازية المستحثة ISR فإنها تكون مستقلة عن حمض السلسليك ولكنها تعتمد على حمض الجسمنك أو الاثيلين . أدت الدراسات على ISR الناتجة بواسطة السلالة 417 Lucs تتبع ممر إشارى جديد الذى فيه مكونات من حمض الجسمنك والايثلين تكون داخلة فيه على التعاقب لتنبه تفاعل دفاعى يشبه SAR .

٢-٢- تشرب الأوراق بالرايزوبكتريا المخلقة ISR تنبه من ISR : لقد وجد أن تشرب أوراق النبات بالبكتريا المخلقة للمقاومة الجهازية المستحثة بسيدوموناس فلوريسينس Cucs 417 r تستحث المقاومة ضد المرض بسيدوموناس سيرنيجيا فى الطماطم DC 3000 فى الأوراق غير المستوية . لقد ثبت أن الرايزبكتريا المخلقة مقاومة جهازية مستحثة تنبه نفس الممر الإشارى الجهازى عندما تضاف إما إلى الجذور أو إلى الأوراق .

٢-٣- المقاومة ISR تتطلب تأشيراً معتمداً على الاثيلين فى موقع التخليق : لقد افترض أن تأثير الاثيلين يكون مطلوباً فى مناطق إضافة المادة الحاثة . هذا يؤدى إلى القول بأن الاثيلين يكون داخلاً فى توليد أو نقل إشارة المقاومة الجهازية المستحثة المنقولة. هذا لا يظهر إمكانية استجابة مكونات الاثيلين التى يمكن أيضاً أن تكون مطلوبة لتعبيرات المقاومة الجهازية المستحثة فى أنسجة بعيدة عن موضع التخليق .

٢-٤- المقاومتان المستحثة والمكتسبة تعملان بصورة تجمعية : لقد تأكد أن الجزئيات الإشارية حمض السلسليك والجسمنك دوراً مهماً فى ممرات مقاومة المرض المستحثة . يمكن أن يعمل حمض الجسمنك والاثيلين بانسجام فى تشجيع استجابات الدفاع بينما حامض السلسليك يمكن أن يثبط الاستجابات المعتمدة على حمض الجسمنك جرياً مع حقيقة أن المقاومتن المكتسبة والمستحثة تتشارك فى العامل المنظم (NPRI) . لقد ثبت أن ممر ISR , SAR تكون متوافقة وبالتالى لا يكون هناك تداخل معنوى بين ممرات هذه التأثيرات . يؤدى التأثير التنشيطي المتزامن لكل الممرين إلى تأثير تجمعى على مستويات الوقاية المستحثة ضد الكائن الممرض Pot DC 3000 فى الطرز الوراثى للأرابدوبسز .

٣- التعبير Expression

٣-١- البحث عن جينات متعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة : تتصف حالة المقاومة الجهازية المكتسبة المستحثة بواسطة الكائن الممرض عن طريق التنشيط المصاحب لمجموعة جينات متعلقة بالمرضية . فى النباتات المعبرة للمقاومة الجهازية المكتسبة تتجمع منتجات الجين المتعلق بالمرضية جهازياً على مستويات من ٠,٣% إلى ١% من مجموع mRNA ومحتوى البروتين .

٣-٢- تحديد موقع جديد ينظم ISR الناتجة بواسطة الرايزوبكتريا (ISR -1) : فى الدراسات الوراثية لتحديد الجينات المتعلقة بالمقاومة الجهازية المستحثة تم جمع إحدى عشر طرز وراثى من نبات الأرابدوبسيز وأجرى عليها فصل لمعرفة كفاءتها فى التعبير عن ISR ضد Pst DC 3000 . وجد عند تحليل كل من الطرز الوراثية WWJ , RLD ذوات الاستجابة للاثيلين تبين أن كلا النوعين يظهرا حساسية منخفضة للاثيلين تكون مرافقة انعزالية مع الالليلات المتنحية للموضع ISR – 1 ومن ثم أقترح أن الموقع ISR -1 فى الأرابدوبسز يشفر مكون جديد لممر استجابة الاثيلين والذى يلعب دوراً مهما فى تأشير مقاومة المرض .

٣-٣- إنتاج حامض الجسمنك والاثيلين أثناء تكوين ISR : زيادة إنتاج حامض الجسمنك والاثيلين تعتبر علامة مبكرة للدفاع النشيط فى النباتات المصابة . عندما تضاف هذه المواد خارجياً تستطيع أن تستحث المقاومة بنفسها . لقد خلص الباحثون إلى أن تبعية حامض الجسمنك والاثيلين للمقاومة الجهازية المستحثة يكون مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الهورمونات إذا قورنت مع الزيادة فى إنتاجها .

٣-٤- فعالية الجينات المستجيبة لحمض الجسمنك فى النبات هى استجابة لـ ISR : إذا كان اعتماد الجسمنك أسد والاثيلين فى المقاومة ISR مبنياً على زيادة الحساسية لهذه الجزيئات الإشارية فإن النباتات المعبرة عن المقاومة ISR من المتوقع أنها تتفاعل بأسرع أو بأكثر قوة مع حمض الجسمنك المستحث بالكائن الممرض أو إنتاج الاثيلين .

٣-٥- ISR تكون مترافقة مع زيادة كفاءة تحويل ACC إلى الاثيلين : فى النباتات الراقية ينتج الاثيلين من المثيونين عن طريق (S – adenosyl – L – me thionine (SAM) أو (ACC) 1- aminocycloprqpane -1- carboxylic acid : ميثونين ← SAM ← ACC ← اثيلين . الخطوتين الأخيرتين لهذا الممر الحيوى يدخل فيها إنزيمات مساعدة هى ACC synthase , ACC oxidases بالترتيب . لقد ثبت أن كفاءة ACC أوكسيديزيس هى المقيدة لإنتاج الاثيلين . لقد خلص أن الاثيلين يعتبر مركب إشارى هام فى استجابات دفاع النبات مع أنه ليس مطلوبا لتكشف المقاومة SAR إلا أنه يزيد الحساسية فى نبات الأرابدوبسز لحمض السلسليك .

مقدرة ISR على كبح شدة المرض تحت الظروف الحقلية

نظراً لأن البكتريا المشجعة لنمو النبات (PGPR) الحاثة على المقاومة ISR تكون متواجدة طبيعياً فى منطقة الرايزوسفير فى النبات وهى من سكان التربة يبرز السؤال : هل النباتات النامية تحت الظروف الحقلية يمكن أن تستحث طبيعياً ؟ لقد وجد أن البكتريا التى تستعمر منطقة الريزوسفير PGPR تستطيع أن تقى النباتات من المرض تحت

الظروف الحقلية التجارية والمقاومة هنا تعزى إلى ISR وتسبب زيادة الإنتاج . يعتمد تخليق المقاومة على استعمار النظام الجذرى فى النبات بواسطة الرايزوبكتريا الحاثة إلى المقاومة لتنبيه ISR . يمكن إنجاز هذا العمل عن طريق إضافة المعلقات البكتيرية إلى التربة قبل الزراعة أو أثناء نقل البادرات أو عن طريق تغليف البذور بأعداد هائلة من هذه البكتريا .

قابلية التوريث فى المقاومة الجهازية المستحثة ISR

لقد أتفق على أن المقاومة المستحثة تقيد نمو الكائن الممرض وتحدث خفض فى شدة المرض . لقد عرفت هذه المقاومة منذ اكتشاف كفاءة الريزوبكتريا فى خلق مقاومة جهازية فى النبات فى أوائل التسعينات . لقد ذكرت هذه المقاومة فى أنواع مختلفة من النباتات ضد مجال عريض من الممرضات وتستحث المقاومة من خلال ميكانيكيات مختلفة . بعض سلالات الرايزوبكتريا تنبه ممر المقاومة المعتمد على حمض السلسليك والبعض الآخر يشجع ممر مستقل عن حمض السلسليك ولكن يتطلب استجابة كاملة لهورمونات النبات الجسمونات والاثيلين وليس للزيادة فى إنتاج هذه الهومونات . لقد وجد أن كفاءة المقدرة على التعبير عنه ISR الناتجة بواسطة WCS 417 r تكون معتمدة على الطرز الوراثى للنبات . تم استحثاث المقاومة ISR عن طريق نقل البادرات ذات عن أسبوعين إلى تربة محتوية على البكتريا WCS 417 r بتركيز ٥ × ١٠^٨ وحدة تكون مستعمرات / جرام جذور . أما المقاومة SAR فقد استحثت عن طريق التشرب بالضغط بمعلق من الكائن الممرض الضعيف للسلالة avr Rpt2 من Pst بتركيز ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات لكل ملليلتر فى الورقتين السفلتين . يتم الحقن قبل الحقن بالكائن المتحدى بمدة أربعة أيام عندما تصبح النباتات بعمر خمسة أسابيع كانت تغمر الأوراق فى معلق بكتيرى من Pst بتركيز ٢,٥ × ١٠^٨ وحدة تكوين مستعمرات / ملليمتر بعد ٣ – ٥ أيام تحسب الأعراض المرضية فى النبات .

أظهرت دراسة تحديد موقع ISR -1 المتحكم فى المقاومتين الأساسية و ISR الناتجة بواسطة بكتريا WCS 417 r ضد بسيدوموناس Pst أن حث هاتين المقاومتين ضد Pst كلاهما يكون وراثياً ومن الصفات السائدة أى المقدرة على استحداث هاتين المقاومتين تكون متوارثة على الجين الأحادى . لقد تم إلقاء الضوء عن مدى تأثر كل من الايكوتايب WS , RLD بالموقع ISR -1 وأتضح أن هذه الطرز تكون غير قادرة على أن تكمل بعضها البعض فى التعبير عن ISR والمقاومة الأساسية ضد Pst مؤكداً أن كلا الايكوتايب متأثراً بموقع ISR -1 . إن تدخل موقع ISR -1 فى كلتا الحالتين المقاومة الجهازية المستحثة والمقاومة الأساسية ضد Pst أدت إلى الاقتراح بأن ISR -1 يشفر إلى مكون عام والذى يتدخل فى استجابة المقاومتين .

كيف توقف النباتات المستحثة الكائنات الممرضة ؟

لقد سبق القول أن المقاومة المتحثة ضد الكائنات الممرضة يمكن أن تقسم إلى مجموعتين كبيرتين ، الأولى هى المقاومة الجهازية المكتسبة SAR التى تتكشف إما موضعياً أو جهازياً . استجابة للكائن الممرض الذى يسبب بقع متحللة (نكرزة) إما بسبب إصابة ناجحة أو تفاعل فرط الحساسية . هذه المقاومة تكون متوافقة مع إنتاج بروتينات متعلقة بالمرضية أو تكون ناتجة عن عمليات معتمدة على وساطة حمض السلسليك . النوع الثانى من المقاومة المستحثة تتكشف جهازياً استجابة لاستعمار جذور النبات بواسطة بعض أنواع بكتريا الرايزوسفير ويطلق عليها الرايزوبكتريا المحفزة لنمو النبات PGPR وهى المقاومة الجهازية المستحثة ISR وقلنا أنها تكون ناتجة عن وساطة ممر حساس للاثيلين أو حمض الجسمنك ولا يتدخل فى إظهارها بروتينات متعلقة بالمرضية PR's . إن تفهم التنظيم الوراثى فى كلا من SAR , ISR مهما فى تحديد كيف تكون النباتات قادرة على نقل الإشارات المتولدة أثناء الإصابة والتى تؤدى إلى التعبير أو إظهار جينات الدفاع المفترض وجودها .

هناك سؤال مطروح عن المقاومة الجهازية المكتسبة SAR ألا وهو : كيف تشارك البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs مباشرة فى مقاومة المرض وإذا حدث ذلك فإلى أى درجة هى تشارك فى ذلك ؟ لقد خلص البحاث إلى وجود نظامين واضحين للميكانيكية التى يمكن للبروتينات المتعلقة بالمرضية أن تلعبها فى المقاومة الجهازية المكتسبة :

١- التوقف المباشر لتكشف الكائنات الممرضة الفطرية والبكتيرية عن طريق فعل التحلل المائى لجدر خلايا الكائن الممرض أو بواسطة نشاط تضاد ميكروبى آخر.

٢- النشاط الإنزيمي جلوكانيزيس والكيتنيزيس التى يمكن أن تساعد بطريق غير مباشر فى حدوث المقاومة عن طريق إطلاق منبهات غير متخصصة .

علاوة على التغيرات البيوكيميائية التى تحدث فى النبات كنتيجة للمعاملة الحاثة (أو المخلقة) للمقاومة فإن هناك استجابات معينة يجب أن يظهرها النبات أو تكون متوفرة عنده لكى يكون ظهور المقاومة الجهازية كاملاً . لقد وجد حدوث خفض للاختراق بواسطة الفطريات فى نباتات الخيار التى يكون فيها التعبير عن المقاومة المستحثة للمرض للفطريات المهاجمة للورقة قد ثبت أنها متوافقة مع تحور سريع للبشرة الخارجية لجدار خلية العائل فى النقطة التى منها يحاول الفطر الاختراق . لقد وجدت علاقة عكسية بين عدد الاختراقات الناجحة فى نباتات الكونترول مع عدد الاختراقات غير الناجحة فى النباتات المستحثة . لقد أدت دراسة كيمياء النسيج إلى الكشف عن كل من ترسبات اللجنين والسليلوز تحت أعضاء الالتصاق التى لم تنجح فى الاختراق . كما ثبت أن جدر خلايا

البشرة الخارجية تكون متحورة تحت عضو الالتصاق وأن هذه التحورات تشمل مركبات فينولية وسليكون .

عن المقاومة المستحثة للكائنات الممرضة البكتيرية وجد أن تشريب أوراق الدخان بخلايا ميتة حرارياً من بكتريا الستونيا سولا ناسيزوم يمكن أن يحث مقاومة موضعية ضد نفس الكائن الممرض . لقد وجد أن الخلايا الميتة حرارياً يمكن أن تقي النسيج ضد تفاعل (استجابة) فرط الحساسية المنبه بواسطة عزلة غير شديدة المرضية من البكتريا المذكورة قبلاً . تكون المقاومة المستحثة مترافقة مع انخفاض نمو البكتريا الداخلة فى تحصين النبات فى النسيج المستحث وإنتاج مواد مثبطة . لقد ذكر أن هناك زيادة فى مضادات الأكسدة تحدث جهازياً فى الدخان كاستجابة للمقاومة المتخلقة وكاستجابة للمعاملة بحمض السلسليك وهذا التعبير فى حالة مضادات الأكسدة قد اقترحت بأنها الأساس للتعبير عن بقعة النكرزة. مثبطات النمو البكتيرى تتكون نتيجة لتخليق مقاومة أو لأن ذاك النبات يستجيب بسرعة للحقن عن طريق إنتاج مثبطات نمو بكتيرى .

لقد ذكر Ross عام ١٩٦١ أن الحقن الموضعى لنباتات الدخان ذات الجين N بفيروس موزايك الدخان تؤدى إلى زيادة فى المقاومة الجهازية والتى يعبر عنها بواسطة خفض فى كل من حجم وعدد البقع المتحللة . لقد خلص إلى أن حالة المقاومة المستحثة تخفض تضاعف و / أو انتشار الفيروس . لقد ثبت أن الدفاعات الزائدة هى التى تعمل عن طريق تثبيط شدة الإصابة . كذلك وجد أن حمض السلسليك خلق ميكانيكيات تتدخل فى التأثير على تضاعف الفيروس TMV فى كل من نباتات الدخان من الطرز الوراثى ذات الجين N (ذات المقاومة للحساسية الفائقة) والنباتات ذات الجين (nn) القابلة للإصابة .

هناك تفسيرات كثيرة لسرعة استجابة النبات للمواد الحاثة أو الإصابات منها :

١- إن منتجات جين R فى النبات تكون ضرورية للتعرف على منتجات جينات الكائن الممرض غير شديدة المرضية ، وهذا التعريف يؤدى إلى تفاعلات الدفاع سواء فى المقاومة المستحثة أو المكتسبة .

٢- إن البروتينات المتعلقة بالمرضية PRs ، تعمل على إطلاق منبهات غير متخصصة من جدر الخلية ، هذه المنبهات سريعاً ما تحدث دفاعات ضد الإصابات الفطرية أو البكتيرية ، تظهر هذه الدفاعات على شكل تكوين فينولات أو إفراز إنزيمات سريعاً ما تؤثر على الكائن الممرض . ولقد وجد أن هذه البروتينات يمكن أن تثبط التكشف الفطرى أو البكتيرى بشكل أكبر وأسرع منه فى حالة استعمال بعض المبيدات الفطرية .

٣- إن الكائنات الممرضة التى تهاجم النبات (التى يحدث لها تثبيط) يمكن أن تطلق مثيرات تنبيه وسائل الدفاع فى النبات ، سواء عن طريق الجينات أو الطرق

الفسيولوجية . لوحظ هذا النوع من الاستجابة فى فول الصويا ، حيث أن المعاملة المسبقة بمادة Metalaxyl تقى فول الصويا ضد الإصابة بالفطر Phytophthora megaperma var. sojae وأن جزءاً من هذه الوقاية يكون مترافقاً مع الإنتاج السريع لـ Glycollin فى منطقة الإصابة (من المحتمل أن يكون هذا راجعاً إلى إطلاق مثيرات من الكائن الممرض الضعيف بمادة Metalaxyl) .

٤- يمكن لأنسجة النبات أن تتكيف بحيث تستجيب سريعاً جداً للإصابة . وجد أن نباتات الخيار المعبرة عن SAR يحدث فيها لجننة لجدر الخلايا بسرعة أكثر كاستجابة للتجريح ، وأن هذه الزيادة فى اللجننة يمكن أن تكون منبهة مسبقاً بواسطة التجريح ، أو الجروح المخلقة بواسطة الاختراق الفطرى . هذه الزيادة فى القدرة على اللجننة يمكن أيضاً أن تساعد فى توضيح النقص فى الإصابة الفيروسية بعد الحقن الميكانيكى (تجريح) بالفيروسات .

٥- تنعكس سرعة استجابة النبات على سرعة ترسب الكالوس . وقد ذكر بأن هذه الحالة تكون متوافقة مع مقاومة المرض المستحثة فى الخيار ، وأن النباتات المظهرة أو المعبرة عن SAR ، تمتلك مستويات عالية من B – 1>3 – glucan synthase والذى من الممكن أن يشارك فى البناء السريع للكالوس فى مناطق الإصابة .

٦- سرعة إنتاج المركب Hydrogen peroxidase . لقد وجد أن نباتات الخيار المعاملة بحمض السلسليك أو منشطات الوقاية والتى تشبه حمض السلسليك ، تستجيب بسرعة للإصابة عن طريق إنتاج هيدروجين بيروكسيديز . إن مصدر هذا المركب غير معروف ، ولكن فى تجارب كثيرة وجد أن Apoplastic peroxidases يمكن أن يكون داخلاً فى المقاومة الجهازية المستحثة أو فى إنتاج Hydrogen peroxide .

المراجع

Albouvette, C., Schippers, B., Lemanceau, P. and Bakker, P.A.H.M. 1998. Biological control of Fusarium wilts : towards development of commercial products. In : Plant-Microbe Interactions and Biological Control (G.J. Boland and L.D. Kuykendall, eds), pp. 15-36. Marcel Dekker, New York.

De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.HM. 1999. Combining fluorescent Pseudomonas spp. strains to enhance suppression of fusarium wilt of radish. Eur. J. plant Pathol. 105: 201-210. [PDF-file].

Folders, J., Tomassen, J., Van Loon, L.C. and Bitter, W. 2000. Identification of a chitin-binding protein secreted by Pseudomonas aeruginosa. J. Bacteriol. 182: 1257-1263. [PDF-file].

Glandorf, D.c.M., Verheggen, P., Jansen, T., Thomashow, L.S., Leeflang, P., Smit, E., Wernars, K., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 1999. Field release of genetically modified Pseudomonas putida WCS358r to study effects on the indigenous soil microflora. In: Workshop Proceedings Leeuwenhorst Congress Centre Noordwijkerhout, the Netherlands, March 5-6, 1998, pp. 41-46. Coordination Commission Risk Assessment Rdesearch (CCRO).

Hammerschmidt, R., Metraux, J.P. and Van Loon, L.C. 2001. Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant Diseases, Corfu, May 2000. Dur. J. Plant Pathol. 107: 1-6. [PDF-file].

Knoester, M., Pieterse, C.M.J., Bol, J.F. and Van Loon, L.C. 1999. Systemic resistance in Arabidopsis induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. Mol. Plant-Microbe Interact. 12: 720-727 [PDF-file].

Pieterse, C.M.J. and Van Loon, L.C. 1999. Salicylic acid-independent plant defence pathways. Trends Plant Sci. 4: 52-58 [PDF-file].

Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Van Wees, S.C.M., ton, J., Leon-Kloosterziel,K.M., Keurentjes, J.J.P., Verhagen, B.W.M., Knoester, M., Van der Sluis, I., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. 2001. rhizobacteria-mediated induced systemic resistance : triggering, signaling, and expression. Eur. J. plant Pathol. 107: 51-61. [PDF-file].

Slusarenko, A.J., Fraser, R.S.S. and Van Loon, L.C. (eds.) 2000. Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 620 pp.

Smit, E., Leeflang, P., Glandorf, B., Van Elsas, J.D. and Wernars, K. 1999. Analysis of fungal diversity in the wheat rhizosphere by sequencing of cloned PCR-amplified genes encoding 18S rRNE and temperature gradient gel electrophoresis. Appl. Environm. Microbial. 65: 2614-2621.

Ton, J., Davison, S., Van Loon, LC. And Pieterse, C.M.J. 2001. Heritability of rhiobacteria-mediated induced systemic resistance and basal resistance in Arabidopsis. Eur. J. plant Pathol. 107: 63-68. [PDF-file].

Ton,J., Peterse, C.M.J., and Van Loon, L.C. 1999. Identification of a locus in Arabidopsis controlling both the expression of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) and basal resistance against Pseudomonas styringae pv. Tomato. Mol. Plant-Microbe Interact. 12: 911-918. [PDF-file].

Van Loon, L.C. 1999. Occurrence and properties of plant pathogenesis-related proteins. In: Pathogenesis-Related Proteins in Plants (S.K. Datta and S,. Muthukrishnan, eds), pp. 1-19, CRC {Press, Boca Raton, FL.

Van Loon, L.C. 2000. Helping plants to defend themselves : biocontrol by disease-suppressing rhizobacteria. In : Developments in Plant Genetics and Breeding, Vol. 6; Phytosfere 99, Highlights in European Plant Biotechnology Research and Technology Transfer (G.E. de Vries and K. Metzlaff, eds), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 203-213.

الباب الثاني

المفاهيم الأساسية لدفاع النباتات ضد آكلات العشب الحشرية

أولاً : الدفاعات المباشرة فى النباتات وتحفيزها بواسطة الجروح وآكلات العشب الحشرية

من مقالة للباحثين Gregg A. Howe and Andreas Schallee

عوامل المقاومة لدفاع النبات المباشر ضد الحشرات آكلة العشب تتضمن صفات نباتية تؤثر سلباً على تفضيل الحشرة (اختيار النبات العائل ، التبويض ، سلوك التغذية) أو الأداء (معدل النمو ، التطور ، نجاح التكاثر) مما يؤدى إلى زيادة لياقة النبات فى البيئة المعادية . هذه الصفات تتضمن الصفات المورفولوجية لتحقيق الدفاع الطبيعى مثل الأشواك والنموات الشعرية وأفلام شمع الكيوتيكل السطحى وبلورات الشمع وخشونة النسيج وتراكيب الإفراز وقنوات الراتنج . هذه تشمل كذلك المركبات الضرورية للدفاع الكيميائى مثل نواتج التمثيل الثانوية وبروتينات الهضم الاختزالية والإنزيمات المضادة للتغذية . جميع هذه الصفات قد يعبر عنها تأسيسياً على أنها عوامل مقاومة سابقة التكوين أو تكون محفزة وتنتشر فقط بعد مهاجمة آكلات العشب الحشرية . تحفيز صفات الدفاع ليست قاصرة على موضع الهجوم ولكنها تمتد إلى الأجزاء النباتية السليمة غير المصابة . الطبيعة الجهازية لاستجابات النباتات لهجوم آكلات العشب تتطلب بالضرورة نظام إشارى طويل المدى قادر على خلق ونقل واستنتاج وتمييز إشارات التحذير التى تنتج على منطقة بين السطوح للنبات وآكل العشب . الكثير من البحوث عن حوادث الإشارات التى تدفع بواسطة آكلات العشب ركزت على نباتات الطماطم والعائلة الباذنجانية . فى هذا النموذج فإن سيستيمين الببتيد يعمل عند أو بالقرب من موقع الجرح لتعظيم إنتاج حامض الجسمنك . حمض الجسمنك أو نواتج تمثيله تعمل كإشارات طويلة المدى متحركة فى اللحاء وتحفز تعبير جينات الدفاع فى الأجزاء البعيدة من النبات . فى هذا المقام سنحاول إلقاء الضوء عن خصائص الدفاع الطبيعية والكيميائية واستعراض ميكانيكيات التأشير المسئولة عن تعبير التحفيز بعد هجوم الحشرات .

A. Challer
University of Hohenheim , Institute of Plant Phsiology and Biotechnology , -70599 Stuttgart , Germany .
e-mail : Schaller@uni-hohenheim.de
A. Schaller (ed.), Induced Plant Resitance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008 .

١ – مقدمة

النباتات خاصة النباتات المزهرة ذات تنوع كبير في الحجم والشكل يتراوح من ملليمترات قليلة في مخالب البط الدقيقة وحتى ١٠٠ متر في أشجار الكافور العملاقة . البعض قد يكمل حياته في أسابيع قليلة والأخرى تعيش آلاف السنين . التنوع المدهش ينتج من التكيف للبيئات المختلفة المعادية وكمثال النشوء المبكر للنباتات الأرضية . استعمار الأرض بواسطة النباتات يرجع لحوالي ٤٨٠ مليون سنة تبعاً لسجلات الحفريات والتي تعتبر علامات عن بدء قصة نجاح النشوء مع النباتات المزهرة التي تحتل الآن جميع أماكن المعيشة على سطح الكرة الأرضية فيما عدا المناطق المحيطة بالقطبية وقمم الجبال الأعلى والمحيطات العميقة . استعمار الأرض كان الحادثة الكبرى في تاريخ حياة النبات وفي نفس الوقت مهدت الطريق لحدوث النشوء الفظيع للنظم البيئة الأرضية . بالرغم من قابلية النباتات ككائنات لا عنقية للتأثير بالظروف المعاكسة الحيوية واللا حيوية فإنها في الواقع تسود على غالبية سطح الأرض . هذا النجاح الواضح للنباتات المزهرة يعتمد ويتوقف على المقدرة على الثبات في البيئات غير الملائمة والمتباينة عن طريق نظم مقاومة فعالة تعتمد على خليط من الخصائص الطبيعية والكيميائية والتطورية . لقد تم الاستقراء بواسطة الباحث Stahl عام ١٩٨٨ أن التنوع العظيم الكبير في الوسائل الميكانيكية والكيميائية لحماية النباتات قد اكتسبت من جراء كفاحها للوجود في داخل عالم الحيوان مما أدى إلى الخلاصة بأن عالم الحيوان [....] يؤثر بعمق ليس فقط على الشكل الظاهري أو المورفولوجي ولكن على كيميائيتها . ليس فقط على الأشواك والشعيرات كصفات مورفولوجية للمقاومة ولكنها تشمل الأصناف المذهلة من الكيميائيات الثانوية النباتية التي تشهد على الضغط الانتخابي الذي يحدث بواسطة الحيوانات آكلة النباتات .

لقد اكتشف بعد ذلك أن التعبير المحفز عن خصائص المقاومة تزيد من لياقة النبات في البيئات التي تأوي وتستوطن العديد من الطفيليات النباتية . تحفيز المقاومة النباتية سجلت في البداية مع الممرضات الفطرية والبكتيرية في بداية التسعينات وبعد ذلك أتضح أن الدفاع المحفز يوجد كذلك ضد آكلات العشب الحشرية . في الورقة العلمية التي نشرت عام ١٩٧٢ أوضح الباحثان Green and Rayan أن نباتات الطماطم والبطاطس تراكم مثبطات التربسين والكيموتربسين التي تشبه السيرين بروتينيزيس خلال أنسجتها الهوائية كتتابع مباشر للتلف الذي تحدثه الحشرات أو الجروح الميكانيكية . مثبطات البروتينيز توجد تركيبياً في تركيزات عالية في أعضاء التخزين النباتية ويمكن أن تعمل كوسائل حماية ضد الحشرات . لقد اقترح هذان الباحثان أن تعبير مثبطات البروتينيز قد ينظم في الأوراق لجعل النبات أقل استساغة وربما يكون قاتلاً للحشرات الغازية . تراكم مثبطات البروتينيز في الأنسجة الهوائية أقترح أن يمثل نظام دفاع تحفيزي حيث يؤثر مباشرة على أداء الحشرات المستهلكة للأوراق النباتية عن طريق تجويعها عن المغذيات مما يؤدي إلى تحفيز المقاومة النباتية ضد آكلات العشب . الآن أصبح واضحاً أن الجودة الغذائية

للمجموع الخضرى من العوامل المحددة الهامة لنمو وتطور آكل العشب والدفاع من جراء التضاد الغذائى كجزء من الخرسانة النباتية لتحفيز المقاومة لاقى القبول .

على امتداد ٣٥ عاماً من البحوث بعد الاكتشاف الأولى بواسطة Rayam ومعاونوه ثم وضع أساس المقاومة النباتية ضد الحشرات آكلة العشب كعملية ذات ديناميكية عالية . بالإضافة إلى مثبطات البروتينيز تم تعريف الكثير من عوامل التحفيز والتى تساهم فى الدفاع المباشر والتى تلعب دوراً كبيراً فى تحفيز لياقة النبات العائل بعد هجوم آكل العشب . هذه هى النواحى التى سوف نتناولها فى هذا المقام لتوضيح الأرضية أو الخلفية لعمل مناقشة تفصيلية عن الدور الدفاعى للبروتينات الفردية فى التتابع . من النواحى الأخرى للمقاومة المحفزة التى حفزت وشجعت الباحثين بعد نشر بحث جرين ورديان هى الطبيعة الجهازي للاستجابة حيث أن بروتينات الدفاع لا تتراكم فقط عند موضع الجرح ولكنها توجد جهازياً فى الأنسجة غير المجروحة للنباتات المصابة . من الواضح أن الإشارة يجب أن تخلق محلياً كتتابع لتغذية الحشرة والتى تتضاعف عندئذ خلال النبات وتصبح قادرة على تحفيز تعبير بروتينات الدفاع فى المواضع البعيدة .

٢- عوامل المقاومة المحفزة للدفاع المباشر

منذ الملاحظة الابتدائية عن تراكم مثبطات البروتينيز فى نباتات الطماطم والبطاطس المجروحة فإن التحفيز بواسطة آكلات العشب ظهر مع عدد كبير من عوامل المقاومة المؤثرة الأخرى . فى ضوء الدراسات الحديثة التى تحلل استجابات التحفيز عند مستوى النسخ الكامل السليم بدأنا فى الامتنان للعرض الكامل والطبيعة الديناميكية العالية للتداخلات بين النبات والحشرة . لقد أظهرت العديد من الدراسات أن آكل العشب يسبب تغيرات كبيرة المستوى فى التعبير الجينى . كمثال فقد تم تقدير أن ١١% من النسخ Transcriptome تنظم بشكل متفاوت بواسطة تغذية الحشرة . هذا بينما أن تحفيز بعض الجينات أو الإنزيمات كل على حدة ليس دليل كافى للوظيفة فى دفاع النبات . هذا ولو أن الإسهام المؤثر فى صفة ما على المقاومة النباتية يمكن أن تختبر فى المعمل عن طريق مقارنة تفضيل آكل العشب و / أو الأداء على النباتات التى تختلف فى الصفة محل الاهتمام ، الدور فى دفاع النبات الذى يتضمن أن التعبير عن صفة المقاومة ترتبط بالكسب فى اللياقة النباتية وهذه الارتباطات يجب أن تظهر فى التجارب الحقلية التى تحاكى الظروف الحقيقية أو الواقعية على مستوى العالم .

هناك مطلب إضافى لنشوء نظم الدفاع المحفزة يتمثل فى التباين الوراثى فى درجة التحفيز . لقد لوحظ التباين الوراثى بشكل متكرر فى المجاميع الطبيعية كما فى المقاومة الطبيعية (كثافة الشعيرات) أو المقاومة الكيميائية (محتوى الجلوكوسينوليت) فى نبات Arabidopsis وكلا الصفتان يرتبطا مع تكاليف اللياقة بالنسبة لصفات المقاومة المحفزة مع أنه تأكدت فائدة اللياقة فى قليل من الحالات فقط . من أحد الأمثلة نباتات الفجل التى تم

تحفيزها كى تراكم مستويات عالية من الجلوكوسينولات ولإنتاج الشعيرات بكثافة زائدة . بالمقارنة مع النباتات العادية فإن هذه النباتات المحفزة تظهر الصفتان المقاومة الزائدة لأكل العشب وزيادة كتلة البذور (ارتباط اللياقة طوال فترة الحياة) . لقد أكدت التجربة دور مباشر للشعيرات (الترايكومات) والجلوكونيولات كعوامل مقاومة طبيعية وكيميائية على التوالى . على نفس المنوال فإنه فى نبات نيكوتينيا أثينيواتا فإن الإنتاج المحفز للنيكوتين كعامل مقاومة كيميائى كان مرتبطاً بتكاليف التمثيل ولكنه قدم فائدة لياقة عندما كانت النباتات تحت هجوم آكلات العشب . ولو أن هذه الموجودات لا يمكن تعميمها كما أن الدور الدفاعى لا يمكن افتراضه مع جميع استجابات النبات للجروح وهجوم آكلات العشب فإن سيادة المقاومة المحفزة وصفاتها توجد على النظم بين النبات وآكل العشب تفيد بأن مثل هذه الاستجابات تكون نتيجة للانتخاب الطبيعى الذى يتحقق بواسطة آكلات العشب الحشرية خلال النشوء .

أى صفة نباتية تتداخل مع اختيار النبات العائل أو التبويض أو تغذية أى آكل عشب حشرى يعتبر عامل مقاومة مؤثر وقد يساهم إضافياً إلى دفاع النبات .. من بين هذه الصفات الأكثر شدة الصفات المورفولوجية والتركيب الكيميائى للنبات والاثنين عرفا على أنهما من الخصائص التكوينية للمقاومة وكانا من الأهداف التى ركزت عليها الدراسات الابتدائية عن المقاومة المحفزة ضد آكلات العشب الحشرية . فى هذا المقام سوف نركز على استعراض عوامل التحفيز التى تؤدى إلى تحفيز المقاومة من خلال التأثيرات المباشرة على التفضيل والأداء فى الحشرة . التمييز التقليدى بين خصائص الدفاع النباتى الذى قد يكون مورفولوجى أو كيميائى سوف يستخدم من هذا المقام كما فى الجدول (٢-١) .

جدول (٢-١) : تقسيم الصفات أو الخصائص الدفاعية . عوامل المقاومة يمكن أن توضع فى مراتب الطبيعية (مثل الخصائص المورفولوجية والتركيبية للنبات) أو بيوكيميائية (مثل نواتج التمثيل السامة أو المضادة للتغذية والبروتينات) أو الايكولوجية (مثل الأنواع الأخرى) . تختلف هذه المراتب بالنظر لكيفية إحداثها للتعبير (تكوينية أو تحضيرية) والفعل (فى دفاع مباشر أو غير مباشر)

نوع الصفة	كيفية التعبير	كيفية إحداث الفعل
• طبيعية	تكوينية	دفاع مباشر
		(مضادات أكسدة – تحمل – التضاد)
• بيوكيميائية	محفزة	دفاع غير مباشر

• ايكولوجية		(تداخلات ثلاثية السلسلة الغذائية)

من الأهمية التمييز بأن هذا التقسيم هو فى الغالب اعتباطى لأن أى صفة موروفولوجية ما هى إلا صفة ترجع إلى عملية بيوكيميائية منظمة وراثياً ومن ثم تكون كيميائة أيضاً فى الأساس .

٢-١- الصفات المورفولوجية للدفاع الكيميائى

آكلات العشب الحشرية من جميع مراتب التغذية يجب أن تتلامس مع سطح النبات كى تثبت نفسها على العائل النباتي . لذلك لا يثير الدهشة أن الصفات الطبيعية والكيميائية لسطح النبات محددات هامة للمقاومة . أفلام شمع الجليد السطحى والبللورات التى تغطى كيوتيكل معظم النباتات الوعائية بالإضافة للدور الهام الذى تقوم به لتحمل التجفيف فإنها تزيد كذلك من الانزلاق الذى يعيق مقدرة العديد من الحشرات غير المتخصصة لاستيطان سطوح الأوراق . الخصائص الطبيعية لطبقة الشمع وكذلك تركيبة الكيميائى من العوامل الهامة للمقاومة المسبقة . هذا ولو أن التغيرات المحفزة فى إنتاج الشمع وكيمياء السطح لوحظت كما أن الدليل عن دور شمع الكيوتيكل والكيوتيكل السطحى فى المقاومة المحفزة مازال نادراً . التخليق الحيوى للشمع والتركيب معروف أنه يختلف خلال تطور النبات والصفات الطبيعية الكيميائية للكيوتيكل تستجيب للتغيرات فى الموسم والحرارة . إذا أخذ فى الاعتبار براعة النباتات فى التعامل مع أعدائها يكون من الدهشة إذا كان تنظيم إنتاج الشمع على سطح الورقة لم يسخر للتأثير على مخرجات التداخلات بين النبات والحشرة .

من المكونات الأخرى على سطح النبات التى تلعب دوراً فى الدفاع التكوينى الأشواك والشعيرات التى تعمل مباشرة ضد آكلات الأعشاب من الثدييات والترايكومات الفعالة ضد الحشرات . الشعيرات غير الغدية قد تعمل كعوامل مقاومة تركيبية حيث تمنع الحشرات الصغيرة من ملامسة سطح الورقة أو تحد من حركتها . عوامل المقاومة المورفولوجية والكيميائية تندمج فى الترايكومات الغدية . الغدد تنتج مواد تقوم بطرد آكلات العشب الحشرية أو تطردها من التغذية (Antixenois) أو تمنع حركتها على سطح الورقة . من المثير للاهتمام أن كثافة الشعيرات فى بعض الأنواع النباتية تزداد استجابة لتغذية الحشرة ومن ثم تكون مقاومة محفزة الدور الدفاعى للترايكومات نوقش بالتفصيل بواسطة Dalin et al. .

خشونة الورقة Leaf roughness عامل طبيعى هام لتحقيق المقاومة النباتية حيث أنه يؤثر على نفاذية أنسجة النبات بواسطة أجزاء الفم الثاقبة الماصة للحشرات كما تزيد من الإرهاق الفكى لآكلات العشب ذات أجزاء الفم القارض الماضغ . خشونة الورقة ترتبط بشكل متكرر بمقاومة الحشرة وهى معيار جيد للتنبؤ بمعدلات آكلات العشب . ولو أن خشونة الورقة ينظر إليها تقليدياً على أنها خاصية طبيعية فإن هذه الصفة تمثل

الصعوبة العامة فى رسم تمييز واضح بين عوامل المقاومة الطبيعية والكيميائية . إعادة تعضيد جدار الخلية لتحفيز خشونة الورقة ينتج من ترسيب كيميائيات تتضمن جزئيات كبرى مثل اللجنين والسليلوز والسوبرين والكالوز وجزئيات عضوية صغيرة (مثل الفينولات) وحتى جسيمات السليكا غير العضوية . التخليق المحفز و / أو ترسيب هذه الكيميائيات بعد الجرح يؤدى إلى حدوث مقاومة طبيعية محفزة .

من وسائل الدفاع التشريحية التى وجدت فى النباتات ذات الأصل عديدى الجينات المتفرعة تلك التى تتمثل فى شبكة من القنوات مثل القنوات اللبنية Lacticifers (الخلايا الحية المحتوية على العصارة اللبنية (اللاتكس) أو قنوات الراتنج (الفراغات بين الخلوية المملوءة بالراتنج) التى تخزن اللاتكس أو الراتنجات تحت ضغط داخلى . عندما يشذ نظام القناة فإن المحتويات تصبح ناضجة وتنز وقد تقوم باصطياد أو تصبح سم لآكل العشب . بعيداً عن أكثر من ٥٠ عائلة نباتية فإن حشائش اللبن (الجنس Asclepias فى العائلة Asclepiadacea) قد تكون أحد الأمثلة . العصارة اللبنية لحشيشة اللبن تتجلط بمجرد التعرض للهواء وتوقف حركة يرقات الحشرات الصغيرة . كعامل إضافى للمقاومة الكيميائية فإن السائل اللبنى " لاتكس " قد يحتوى كميات كبيرة من الكاردينوليدات السامة . من المثير للدهشة أن العديد من آكلات العشب الخاصة التى تتغذى على حشيشة اللبن أو غيرها من النباتات التى تنتج السائل اللبنى تستخدم استراتيجيات تغذية توقف انسياب اللاتكس إلى مواضع التغذية المستهدفة . سلوك التغذية هذا يعمل باستقلالية فى العديد من النظم الوراثية عديدة الجينات ويمكن النظر إليها على أنها تكيف آكلات العشب لنظم الدفاع النباتية التى تعتمد على اللاتكس .

من الصور واسعة الانتشار والمستقرة من الحماية التشريحية هى الدفاعات المبنية على الراتنجات فى أشجار الصنوبر . الراتنج وهو مخلوط من التربينات الأحادية والسيسكيو تربينات وأحماض الراتنج ثنائية التربينات تتراكم فى قنوات الراتنج والتراكيب الإفرازية المرتبطة . الخنافس التى تحفر السوق وغيرها من الحشرات التى تكسر نظام قناة الراتنج تطرد من الثقب بواسطة انسياب الراتنج . بمجرد التعرض للهواء فإن الجزء عالى التطاير من التربينات الأحادية يتبخر ويترك الحشرات مصطادة فى أحماض الراتنج التى تصلبت ويقفل مكان الجرح . ولو أن نظام الدفاع المعقد المعتمد على الراتنج فى أشجار الصنوبر يكون مسبقاً فإنه يحفز لاحقاً استجابة لحدوث الجروح . من بين مكونات تحفيز النظام التخليق الحيوى للتربين .

فى النهاية فإن عملية شفاء أو اندمال الجروح نفسها يمكن أن تعتبر كصفة تشريحية تحفز بالجروح لتحفيز حدوث المقاومة . الغلق الفعال للجرح ذات أهمية فى منع فقد الماء وفرص العدوى بالممرضات البكتيرية والفطرية عند موضع تلف النسيج . قفل الجرح قد يتضمن انقسام خلوى مكثف وتكوين كالكلاس الجرح . فى حالة النباتات ذات نظم الدفاع

التى تعتمد على الراتنج والعصارة اللبنية اللاتكس فإن تجلط الإخراجات قد يسد موقع الجرح بكفاءة من الأكثر عمومية تكون طبقة سد من الخلايا بواسطة انتشار مواد مضادة للميكروبات وغير منفذة للماء بما فيها اللجنين والسوبيرين . هذا قد يكون متبوعاً بواسطة تحفيز الانقسام الخلوى وتكوين البشرة السطحية " البريدرم " كنسيج واقى يكون غير منفذ للماء ويقاوم الممرضات . تكوين بشرة الجرح وإسهامها المؤثر فى الدفاع النباتى نوقشت وسوف نناقش بالتفصيل فى موضع لاحق من هذا الكتاب .

٢-٢- نواتج التمثيل والإنزيمات المرتبطة بالدفاع الكيميائى

الكيميائيات النباتية التى تلعب دوراً فى الدفاع المباشر تتلف أداء آكلات العشب بواحد من الميكانيكيتين العامتين : هذه الكيميائيات قد تخفض القيمة الغذائية للغذاء النباتى أو قد تعمل كمواد طاردة أو نافعة للتغذية أو توكسينات . يوجد جدل كبير عن أى من هذه الاستراتيجيتان أكثر أهمية اختيار العائل النباتى ومقاومة الحشرات . جزء هام من هذا الجدل يتعلق بالدرجة التى يتضمنها التباين فى نواتج التمثيل الأولية والثانوية كوسيلة دفاع فى النبات . التمثيل الأولى النباتى الذى يتقاسم مع الحشرات والكائنات الحية الأخرى تقدم وتوفر الكربوهيدرات والأحماض الأمينية والليبيدات كمغذيات ضرورية للحشرات . جودة الغذاء تحدد بشكل كبير بواسطة تيسر هذه المغذيات وأهميتها للدوام والحجم ومعدلات الخصوبة والموت فى الحشرات آكلة العشب وقد تم تمييز هذه العلاقات مبكراً بواسطة Painter ، ١٩٣٦ . بالإضافة إلى ذلك فإنه تم تعريف ما يزيد عن ١٠٠٠٠٠ مركب نباتى (مثل نواتج التمثيل الثانوية Secondary metabolites) دون تحديد دور واضح فى التمثيل الأولى والعديد من هذه المركبات اعتبرت نواتج تمثيل مستهلكة ضائعة . بينما العديد من نواتج التمثيل الثانوية فى الحقيقة تستهلك للتمثيل الأولى والآن هناك قبول عريض أنها تؤدى وظائف ايكولوجية هامة فى التداخل النباتات مع البيئة الحيوية واللا حيوية .

تبعاً للنموذج الذى وضع بعداً بواسطة Fraenkel فى الورقة الرائدة التى نشرت عام ١٩٥٩ فإن نواتج التمثيل الثانوية فى نوع نباتى معين قد تعمل كمواد طاردة للحشرات العامة (عديدة العوائل Polyphagous) وجاذبات للحشرات الخاصة (وحيدة العائل أو Monophagous) ومن ثم تكون مسئولة لحد كبير عن مدى التقييد العائلى . بالإضافة إلى هذه الوظائف الألليلوكيميائية فإن نواتج التمثيل الثانوية تعمل كذلك فى مسارات متعددة كتوكسينات ومانعات للتغذية ومخفضات للهضم ومضادات للتغذية وكبادئات للدفاع الطبيعى وكمواد متطايرة فى الدفاع غير المباشر . بالرغم من تنوعها فى التركيب والفاعلية والتوزيع فى المملكة النباتية فإن جميع المركبات الثانوية تشتق من مواد وسيطة عالمية للتمثيل الأولى بما فيها فوسفات السكر (ايرسروز -٤- فوسفات) والمرافق الإنزيمى أسيتايل – A والأحماض الأمينية وهى تقسم بشكل مناسب تبعاً لمسارات التخليق

الحيوى لها كمواد فينولية وتربينويدية والكالويدية . كل من أقسام المركبات هذه ودورها فى المقاومة المحفزة ستكون هى محور الأبواب اللاحقة من هذا الكتاب . بينما ظلت أهمية نواتج التمثيل الثانوية (مثل التانينات والفينولات) خارج المناقشة لعقود بعد ورقة فرانكيل المتميزة فإن الاعتراف بأن بعض نواتج التمثيل هذه تعمل كمضادة لنشاط التغذية لفتت أنظار الكثيرين بفكرة أن جودة الغذاء والقيمة الغذائية والتباين فى التمثيل الأولى قد تشترك فى دفاع النبات . الارتباط الوثيق بين جودة الغذاء وصفة المقاومة تم تعضيدها لاحقاً بواسطة Ryan ومعاونوه الذين أوضحوا أن التعبير المحفز لمثبطات سيرين بروتينيز تساهم فى دفاع النبات من خلال التداخل مع عمليات الهضم فى الحشرات ومن ثم تحد من تيسر الأحماض الأمينية الضرورية .

بعد الدراسة المتميزة للباحثان Green and Ryan أشار العديد من البحاث أن التركيب الكيميائى الشامل للنبات يتأثر بشكل كبير بواسطة المعايير التطورية والبيئة بما فيها آكل العشب نفسه . التغيرات المحفزة فى كيمياء النبات تتضمن التخليق الحيوى لأنواع عريضة من الممثلات الثانوية مثل الفينولات والتربينويدات والالكالويدز والجلوكوسيدات السيانوجينية والجلوكوسينولات . لقد أتضح بعد ذلك أن تحفيز البروتينات المضادة للتغذية ليست محددة على مثبطات سيرين بروتينيز ولكنها تتضمن مثبطات أقسام أخرى من البروتينيزيس والإنزيمات التأكسدية .

٢-٣- إعادة ترتيب التمثيل للانتقال من حالة النمو إلى الدفاع الموجه

Metabolic Reconfiguration to Shift from a Growth to a Defense – Oriented State

التغيرات التشريحية والكيميائية الوفيرة المرتبطة بالمقاومة المحفزة تتطلب إعادة برمجة التعبير الجينى . لغرض التحليل الكمى للتغيرات على المدى الواسع فى التعبير الجينى تم تطوير طرق جديدة فى السنوات الحديثة . من أكثر الاقترابات وضوحاً هى تكنولوجيات الترتيب الدقيق Microarray لتعريف النسخ متباينة التعبير وحديثا أكثر طرق تحليل Proteomic Analysis عالى الأداء . مع اكتشاف هذه الطرق أصبح فى الإمكان الآن الحصول على حسابات غير متميزة عن استجابة النبات لآكل العشب . العديد من الجينات المطلوبة للتعبير عن صفات المقاومة المعروفة ظهرت فى الحقيقة أنها عالية التنظيم خلال التداخل بين النبات والحشرة . اتساقا وتناغما مع تنشيط الدفاعات المرتبطة بالتراكيب فإن جينات تمثيل الفينيل بروبانويد العامة والتخليق الحيوى للمونوليجنول وبلمرة اللجنين وتقوية جدار الخلية يتم تحفيزها بواسطة الجروح أو آكل العشب فى هجين شجرة الحور . على نفس المنوال فإن تنشيط الدفاعات الكيميائية تكون مصحوبة بواسطة تحفيز الجينات المشتركة فى التمثيل الثانوى بما فيها الفينولات والامينات العديدة والتخليق الحيوى للالكالويدز فى N. attenuate والجينات لتكوين الفينولات والتربينات فى أشجار

الراتنجيه والحور وتمثيل الفينولات والتخليق الحيوى للجلوكوسينولات فى نباتات الأرابيدوبسز . أكدت هذه الدراسات كذلك تنشيط الجينات المرتبطة بتضاد الهضم ودفاعات تضاد التغذية (مثل مثبطات البروتينيز ، إنزيمات الأكسدة ، اللكتينات) ولتشفير استجابة المقاومة (مثل التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك والاثيلين وعوامل النسخ) . هذا يجدر ملاحظة أن هذه الجينات تمثل فقط جزء من التغيرات الكلية التى تحفز بالجروح فى نشاط الجين . النسخ استجابة للحشرة قدر بحوالى ١٠% من جميع النسخ مما أدى إلى الاقتراح بأن إعادة البرمجة المكثفة للتعبير الجينى مطلوبة لعمل تحول من التمثيل الموجه لنمو النبات إلى التمثيل الموجه للدفاع . الحالة الأخيرة تتضمن تنشيط الجينات لاستجابات الإجهاد العامة (إجهادات الأكسدة – إجهادات فقد الماء – بروتينات صدمة الحرارة) دورة البروتين (مثل بروتييزيس) وعمليات النقل (مثل اكرابورنيز ، بروتينات نقل الليبيد وناقلات ABC وناقلات السكر والببتيد وكذلك تعديل التمثيل الأولى (تمثيل الكربوهيدات والليبيد ، تمثيل النتروجين) وتنظيم البناء الضوئى ووظيفة أو عمل الكلوروبلاست . هذه التغيرات فى التعبير الجينى قد تعكس إعادة تحفيز المصادر من العمليات الأولية لآكل العشب إلى الدفاع.

الحركة الفعالة للمصادر النباتية تميل إلى تسهيل تعبير صفات المقاومة القيمة بما فيها تراكم بروتينات الدفاع وتخليق نواتج التمثيل الثانوية وتكوين وسائل الدفاع التركيبية . من جهة أخرى فإن حركة المصادر قد تساهم كذلك فى تحمل النبات لهجوم آكل العشب . خلافاً لما فى المقاومة فإن التحمل لا يؤثر على تفضيل وأداء آكل العشب ولكنه يسمح للنبات العائل لتقليل أو تحجيم تتابعات اللياقة لفقد النسيج . التحمل والمقاومة ينظر لهما كاستراتيجيات بديلة ومكملة لدفاع النبات ضد آكلات العشب الحشرية . هذا بينما التحمل مازال غير كامل الفهم على المستوى الجزيئى فإنه قد يتضمن حركة كربون ونتروجين الورقة الذى حدث لها ضرر بواسطة آكل العشب والتخزين المؤقت لهذه المصادر لإعادة النمو اللاحق . تحفيز دورة البروتين وتمثيل الليبيد والكربوهيدرات ووظائف النقل التى لوحظت فى دراسات الترتيب الدقيق (كما ذكر سابقاً) قد تكون وثيقة الصلة وبنفس القدر لكلا التحمل والتعبير المحفز لصفات المقاومة . التخزين المؤقت للمصادر يحدث فى الأعضاء الأقل حساسية لآكل العشب ، مثل نظام الجذر . فى الحقيقة فإن التغير فى علاقات الاختراق – المصدر لوحظت فى N. attenuate بعد محاكاة هجوم آكل العشب مما يؤدى إلى زيادة وضع السكريات للجذور وتحفيز التحمل . على نفس المنوال فإن تحفيز بروتينات التخزين الخضرية لوحظت تكرارياً استجابة للجروح بما يسمح للنبات لتنظيم المصادر المتحركة للاستخدام فى إعادة النمو . من الواضح أن هذا الدور كتخزين مؤقت أو التخزين المؤقت للبروتين قد اقترح فعلاً للمثبط I للبروتينيز فى نباتات الطماطم والبطاطس حيث وجد أن البروتين الأول يحفز جهازياً بواسطة آكل العشب .

٣- التأشير الجهازى للدفاع المباشر المحفز

من الملامح الهامة للعديد من الاستجابات الدفاعية المباشرة المحفزة بالجرح حدوثها فى الأنسجة غير التالفة التى تقع بعيداً عن موضع الجرح . مثبطات سيرين بروتينيز المحفزة بالجروح (PIS) تمثل واحداً من أفضل الأمثلة للاستجابة الدفاعية المحفزة جهازيا . فى نباتات الطماطم فإن جينات PI يعبر عنها فى الأوراق البعيدة خلال ١ – ٢ ساعة من هجوم الحشرة أو حدوث الجرح الميكانيكى . الطبيعة الجهازية والسريعة لهذه الاستجابة تكون مرادفة لاستجابة المناعة فى الفقاريات والتى يحدث فيها إرسال الإشارات الصماء Endocrine signals للأنسجة المستهدفة عبر الجهاز الدورى . هذا وبسبب أن النباتات تعانى من نقص الخلايا الدفاعية المتحركة فإن الإشارات الجهازية يجب أن تنتقل لمسافات طويلة عبر الميكانيكيات الخاصة بالنباتات .

الحدوث العريض لاستجابات الدفاع الجهازية فى المملكة النباتية تشير إلى وجود ميكانيكيات شائعة لخلق ونقل وإصدار إشارات تحذير عند موضع تلف النسيج . مثبطات سيرين بروتينيز المحفزة بالجروح فى الطماطم وغيرها من نباتات العائلة الباذنجانية استخدمت على نطاق واسع كنموذج لدراسة الميكانيكية الجزيئية للتأشير الجهازى للجرح . لقد أشار الباحثان جرين وريان (١٩٧٢) أن الإشارات الكيميائية التى تنتج عند موقع الجرح تسافر خلال النبات وتنشط تعبير PI فى الأوراق غير التالفة . تعريف هذه المركبات الإشارية تم اجراؤه بسهولة بالتقييم الحيوى البسيط الذى فيه تزود بادرات الطماطم بمحاليل الاختبار (مثل تلك التى تحتوى على منبه أو محفز) خلال الساق المقطوع ويتبع ذلك قياس تراكم PI فى الأوراق . الاستخدام المكثف لهذا التحليل أدى إلى اكتشاف أقسام مميزة عريضة من المركبات المحفزة لإنزيم PI بما فيها الأوليجوجلاكتيرينودز (OGAs) المشتقة من الجدار الخلوى والسيستمين وحمض الجاسمونيك (JA) وفوق أكسيد الايدروجين . الاشارات الطبيعية (مثل القوى الهيدروليكية والاشارات الكهربية) التى تتولد بواسطة تلف النسيج وجدت متضمنة فى عملية التأشير الجهازية . فى الوقت الراهن يوجد تحدى كبير يتمثل فى تحديد كيف أن هذه الإشارات المتنوعة تتداخل أحدها مع الأخرى لتحفيز الاتصال بين الخلوى عبر المسافات الطويلة.

لقد وضع Farmer and Ryan (1992) النموذج الجارى الذى يشير إلى أن الإشارات خارج الخلايا مثل Systenin , OGAs (يطلق عليها الإشارات الأولية للجروح) تنشأ استجابة للجروح وتوجه الإنتاج بين الخلوى لحمض الجسمونيك خلال مسار الأوكتاديكانويد وأن حمض الجسمونيك فى المقابل ينشط تعبير جينات الدفاع . إنتاج

OGAs المحفز بالجروح يحفز بواسطة عائلة بولى جالاكتورونيزيس (PGs) الذى يعبر عنه فى مختلف الأنسجة النباتية . OGA's غير متحركة نسبياً فى الجهاز الوعائى النباتى ويعتقد أنها تعمل كوسائط محلية . هذا وبسبب أن نشاط PG يحفز جهازياً استجابة للجروح فإن OGAs تقوم كذلك بتكبير استجابات الدفاع فى الأوراق غير المضارة . انتقال الإشارات المعالة بالـــ OGAs قد تنتج من التأثيرات الطبيعية المباشرة لهذه المركبات على غشاء البلازما أو قد تتضمن مستقبلات خاصة Specific receptors .

لقد كان مركب سيستيمين Systamin أول الببتيدات الحيوية التى اكتشفت . الببتيد الذى يحتوى على ١٨ حمض أمينى أشتق من الانقسام بواسطة التحلل المائى لبروتين بادىء كبير وهو السيستين الأولى Prosystemin . عندما استخدمت فى التقييم الحيوى لبادرات الطماطم كان السيستن أكثر نشاطاً بمقدار يزيد عن ١٠٠٠٠ مرة عن OGAs فى تحفيز تعبير PI . لقد أوضحت العديد من خطوط الأدلة أن السيستين يقوم بدور فاتح فى استجابات الدفاع المحفزة فى الطماطم . كمثال فإن النباتات المتحولة وراثياً التى تعبر عن مضاد الحساسية (Prosystemin (Prosys للحمض النووى cDNA تكون ناقصة فى التعبير الجهازى المحفز بالجروح للـــ PI's ومن ثم يستتبع ذلك أن يكون أكثر حساسية لأكلات العشب الحشرية . التعبير الفائق للسيستمين الأولى من الجين المتحول : 35 S Prosys ينشط تعبير PI فى غياب الجروح ومن ثم يشار إليه كمقاومة محفزة لآكلات العشب . أظهر التحليل الوراثى اللاحق أن الجينات المطلوبة للتأشير المعال بالسيستمين ضرورى للتعبير عن PI المحفز بالجروح وغيرها من جينات الدفاع المرتبطة الأخرى . لذلك فإن الجروح والسيستمين تنشط الجينات من خلال مسار تأشير شائع .

تنشيط جينات الدفاع بالنسخ استجابة للسيستيمين تتطلب التخليق الحيوى والفعل المتتابع لحمض الجسمونيك . مسار تأشير السيستمين يبدأ بمجرد ارتباط الببتيد لمستقبل الارتباط على غشاء البلازما (SR160) 16-KDa التى تم تعريفها بمستقبل التكرار الغنى بالليوسين (LRR) الشبيه بعائلة الكينيز للبروتينات . ارتباط السيستيمين لسطح الخلية ترتبط مع العديد من حوادث الإشارات السريعة التى تشمل المستويات المتزايدة من كالسيوم العصارة الخلوية وعدم استقطاب الغشاء وتنشيط شلال كينيز MAP . الميكانيكية الدقيقة التى من خلالها يتم تخليق حمض الجسمونيك ستظل واجبة التقدير . يوجد دليل يوضح أن نشاط الفوسفوليبيز A2 المنظم بالسستيمين فى أوراق الطماطم تفرد أو تحرر حمض اللنيولينك وبادىء حمض الجسمونيك ومن الليبيدات فى غشاء البلازما . كبديل فإن دور الفوسفوليبيز A1 المتمركز فى البلاستيدات الخضراء فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك ترفع إمكانية أن إحساس أو إدراك السستيمين عند غشاء البلازما تندمج مع تنشيط ليبيز مشابه فى الكلوروبلاست . حمض الجسمونيك المخلق استجابة للسيستيمين

OGA's والجروح تعمل فى تماسك مع الاثيلين وفوق أكسيد الايدروجين كى تنظم إيجابيا تعبير الجينات المستهدفة .

٣-١- التحليل الوراثى لمسار الاستجابة للجروح فى الطماطم

التحليل الوراثى يقدم اقتراب قوى لتعريف مكونات مسار الاستجابة الجهازية للجروح . الطبيعة العنيفة للتعبير عن مثبطات البروتينيز المحفزة بالجروح فى الطماطم مع التحليل السطحى لمثبطات البروتينيز وغيرها من العلامات البيوكيميائية (مثل بولى فينول اكسيديز) للاستجابة قد استثمرت لهذا الغرض مع استمرار الكشف الوراثى تم تعريف الطفرات التى تحقق الدفاع فى التعبير بمثبطات البروتينيز استجابة للجروح الميكانيكية أو المعاملة بحامض مثيل جسمونيك (Me JA) . لقد أجرى استكشاف إضافى لتعريف الطفرات التى تخفض من تأثيرات التحفيز للنقل الجينى 35 S : P posys . هذه الاستشكافات أدى إلى إنتاج طفرات عديدة كانت ناقصة فى جينات الدفاع المعبر عنها جهازياً فى التحضير بالجروح . لذلك فإن معظم هذه الطفرات كشفت عن المقاومة المتغيرة للاستجابات المحفزة لحماية النبات .

الكلونة المعتمدة على الخرائط واقترابات الجين المقابل استخدمت لتعريف الجينات التى تم تعريفها بواسطة التحليل الوراثى اللاحق . طفرات Acx 1 , spr 2 والتى نشأت بواسطة طفرية اثيل ميثان سلفونات تعتبر دفاعية فى الجينات المطلوبة للتخليق الحيوى لحمض الجسمونيك . Spr 2 تشفر إنزيم ديستيوريز للحمض الدهنى 3 – W البلاستيدى الذى يحول حمض لينوليك إلى حامض لينولنيك بادىء الجسمونيك ACX1 يشفر اكسيديز المرافق A – للبيروكس سومال أسيل الذى يحفز الخطوة الأولى فى مرحلة الأكسدة -B لتخليق حمض الجسمونيك . الطفرة غير الحساسة للجسمونات (Jail) تأوى حاذف أو شاطب فى أورثولوج الطماطم فى جين غير الحساس للكوروناتين I (CoiI) فى نبات الأرابيدوبسيز . Coil يشفر بروتين F – box الضرورى للتعبير عن الجينات المستجيبة للجاسمونات بما فيها العديد من الجينات المستجيبة للجروح التى تشترك فى الدفاع ضد الحشرات . الاستراتيجيات المعاكسة الوراثية عرفت العديد من الطفرات الإضافية المستجيبة للجروح فى الطماطم . كمثال فإن الخطوط المتحولة وراثيا خاصة المهندسة وراثياً للخلل فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك وتخليق الاثيلين وتأشير ARA وإنتاج ROS تفسد فى التعبير PI الجهازى المحفز بالجروح وغيرها من استجابات الدفاع.

٣-٢- الجاسمونات تقدم دور فاتح فى التأشير الجهازى للجروح

بالرغم من التقدم الكبير فى تعريف الجينات التى تنظم استجابات الدفاع الجهازية فإن ما يعرف عن الدور الخاص لهذه المكونات في مسار التأشير علــى المــسافات الطويلــة مازال قليل نسبياً . نظرياً فإن الجينات المطلوبة للاستجابة الجهازية تلعب دوراً في إنتــاج الإشارة المتحركة وانتقال الإشارة من الأوراق المضارة إلى غير المضارة أو الــسليمة . إدراك الإشارة بواسطة الخلايا المستهدفة فى الأوراق البعيدة أو خطوات التأشير المتتابعة التى تؤدى إلى التعبير عن الجينات المستهدفة . طرق التطعيم التقليدية تقدم اقتراب قــوى لتقدير ما إذا كانت الطفرة الخاصة تعانى نقص فى إنتاج (مثل القدرة علــى النقــل مــع التطعيم) إشارة الجروح أو تمييز هذه الإشارة فى الأوراق المستجيبة . تجارب التطعــيم المتبادل التى تعمل مع طفرة Jai I غير الحساسة لحمض الجسمونيك أظهــرت أن إدراك الجاسمونات (مثل COI 1) ضرورى لتمييز الإشارة المتحركــة علــى البعــد فــى الأوراق المستجيبة البعيدة (الشكل ٢-١ IA d) . لقد أدت هذه الدراســات كــذلك إلــى الاقتراح أن الإشارة المتحركة تنتج فى غياب COI 1 (الشكل ٢-١ IAC) . التجــارب التى أجريت مع طفرات التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك JA (مثل Acx I) أظهرت أن إنتاج الإشارة القابلة للنقل مع التطعيم تعتمد على التخليق الحيوى لحمض الجــسمونيك فى الأنسجة المجروحة (الشكل ٢-١ 113c) . قابلية المطعوم ناقص حمض الجسمونيك للتعبير عن مثبط البروتينيز PI استجابة لإشارة تنبعث من أوراق الأصل البرى أظهــرت لاحقاً أن التخليق الجديد لحمض الجسمونيك ليس ضرورياً لتمييز الإشارة المتحركة فــى الأوراق المستجيبة (الشكل ٢-١ IBD) . بناء على الدراســات المتجمعــة أقتــرح أن حمض الجسمونيك (أو مشتق حمض الجسمونيك JA) يعتبر مكــون حــرج للإشــارة الجهازية . هذه النتائج تتوافق مع دراسات الترتيب الــدقيق التــى توضــح أن الأنــسجة الموضعية أو الجهازية تخضع لحوادث التأشير .

الجهاز الوعائى النباتى تشترك فى السير لمسافات طويلة لمدى عريض من المركبات المؤثرة . أظهرت الدراسات الحديثة دليل مباشر على أن الجاسمونات تنتقل فــى اللحــاء (الشكل ٢-٢) . كمثال فإن الإنزيمات العديدة للتخليق الحيوى لحمض الجسمونيك تقع فى معقد عنصر الغربلة فى الخلايا المصاحبة للحزمة الوعائية . لقد تم تعضيد هذه الملاحظة بواسطة حدوث حمض الجسمونيك فى حزم اللحاء من نبــات بلانتــاجوميجور والتــراكم المفضل للجاسمونات فى العرق الوسطى لورقة الطماطم . الفرضية التــى تنــادى بــأن الإشارة الجهازية التى تنتقل فى اللحاء تم تعضيدها لاحقاً من جراء حقيقة أن الاســتجابات

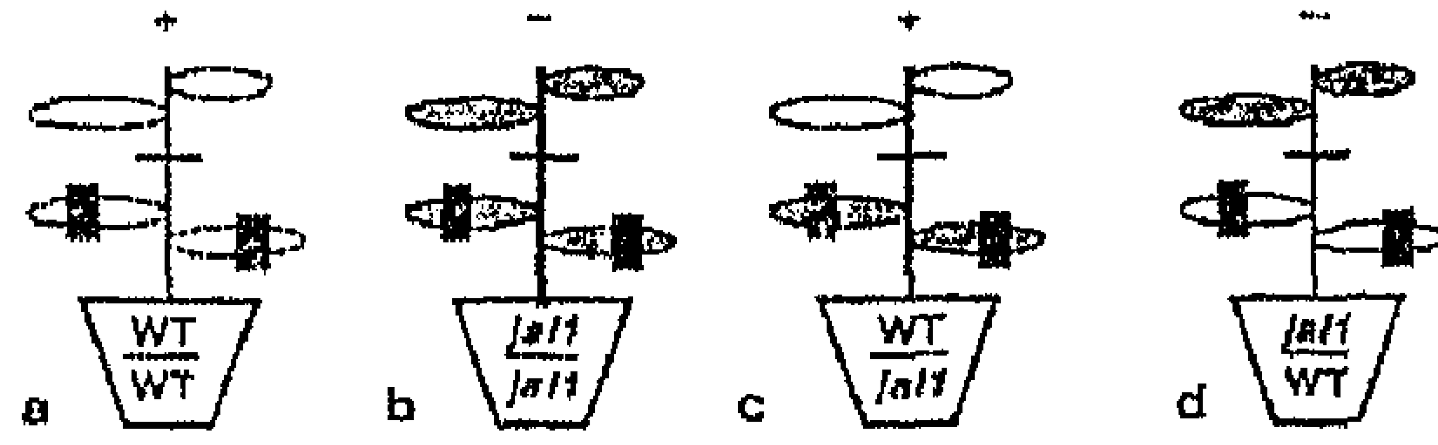
الجهازية المحفزة بالجروح تحفز بقوة بواسطة شدة الارتباطات الوعائيــة بــين الأوراق المجروحة والمستجيبة . معدل حركة الإشارة الداخلية فى نباتات الطماطم قدر بين ١ ، ٥ سم / ساعة . مقدرة اللحاء لنقل جزئيات صغيرة بمعدلات أعلى من ٤٠ سم / ساعة تعول هذه الإشارة بسهولة . بسبب أن التعبير الجهاز لمثبط البروتينيز PI يعال بواسطة الإشارة التى تسافر داخل النبات عما هو الحال مع انتشار الإشارة خلال الغلاف الجــوى فإنــه لا يكون هناك ميل للمثيل جسمونيك آسيد MeJA المتطاير عند موقع الجرح هــو العامــل المسبب للتعبير الجهازى عن مثبط البروتينيز فى الطماطم .

فكرة أن حمض الجسمونيك (JA) أو أحد مشتقاته تعمل كإشارة متحركــة بــسبب الجرح تنادى بأن حمض الجسمونيك المخلق فى الأوراق التالفة ينتقل لــلأوراق الــسليمة البعيدة . فى الطماطم وغيرها من ذوات الفلقتين ولو أن الزيادة الجهازية فــى مــستويات حمض الجسمونيك استجابة للتلف الميكانيكى تكون فى العادة منخفضة جــداً (أقــل مــن ١٠% عما هو الحال مع الأوراق التالفة) أو تكون غير معنوية . فى هذه الحالات حيــث حدثت زيادة جهازية فى مستويات JA إلا أنه لم يقدر ما إذا كان تراكم الإشارات ناتج من التخليق الجديد فى الأوراق غير التالفة أو ما إذا كان حمض الجسمونيك انتقل من الأوراق مصدر الجروح . تجارب التطعيم تعضد إمكانية حدوث الفرضية الأخيرة كما هو الحــال مع الحركة فى اللحاء ونشاط التأشير الجهازى لحمض الجسمونيك الخارجى . المستويات المنخفضة من JA المحفز بالجروح فى الأوراق الجهازية قد تعكس حجز الإشــارة فــى أنواع خاصة من الخلايا الوعائية . كبديل وهو غير اجبارى الحدوث تكون هناك إمكانيــة أن حزمة حمض الجسمونيك المتحرك فى اللحاء سرعان ما يحدث لها تمثيل إلى مــشتق حيوى فعال آخر . مشتقات حمض الجسمونيك التى تنتج بواسطة المثللــة والجليكوســللة والكبرتة واقتران الحمض الأمينى وفقد الكربوكسلة تم وضعها . واحد أو أكثر من هــذه التحويرات قد تغير بشكل مؤثر من النقل والثبات أو تــداخل حمــض الجــسمونيك مــع الجزئيات المستهدفة (الشكل ٢-٢) .

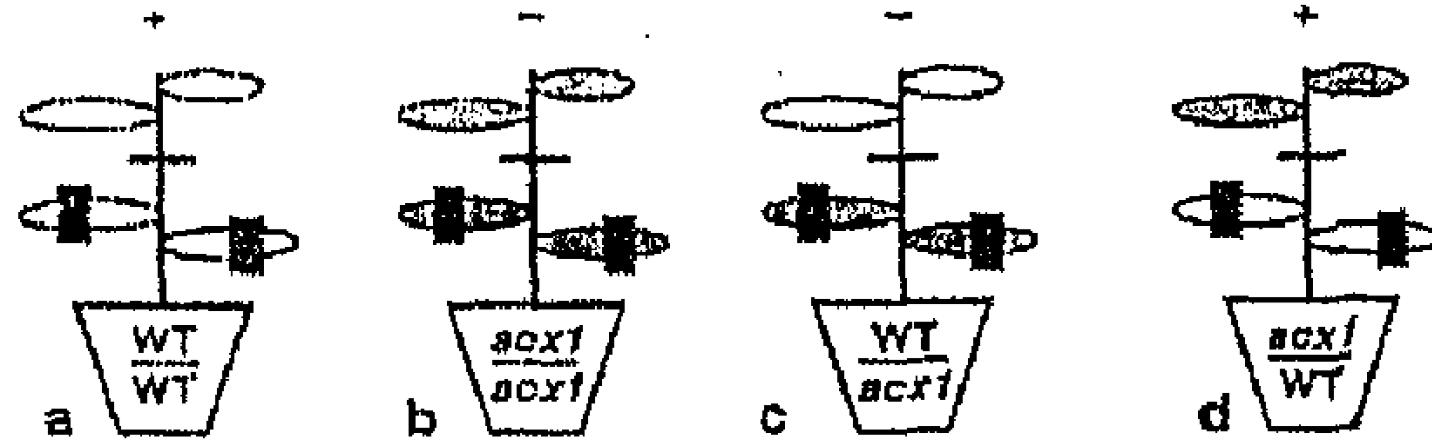
حمض ميثيل جسمونيك MeJA وبعض مقترنات الحمض الأمينى جاسموزيل (مثل JA – Iie) عبارة عن محفزات فعالة لتعبير جين الــدفاع اعتمــاد JA – Ile , Me JA للاستجابات المحفزة على COI 1 أوضح أن كل المركبات رفقاء للإشارات فى الاستجابة الجهازية المحفزة بالجروح . تحليل الطفرات التى فشلت فى إنتاج Me JA أو JA – Ile تقدم اقتراب قوى لاختبار هذه الفرضية . تحويل JA إلى MeJA يعال بواسطة إنزيم JA كربوكسيل مثيل ترانسفيريز (JMT) بينما تحول JA إلــى JA – Ile يحفــز بواســطة

الإنزيم المكون للأدينالين المعتمد على ATP وهو JARI . ولـو أن تـأثير فقـد PMT لوظيفته على استجابات الدفاع المحفزة بالجروح غير معروفة فقد اتفق على أن إنتاج JA – Ile المعال JARI تلعب دوراً مؤثراً فى عمليات تشفير الجاسمونات العديدة . عـلاوة على ذلك أظهرت الدراسات الحديثة أن سلاسل JARI فى نبات نيكوتينيا أتينواتا مطلوبـة لاستجابات الدفاع المحفزة بالجروح من جراء هجوم الحشرات . الدور الواضح والمحـدد لحمض JA-ILe فى الدفاع المحفز زادت من إمكانية أن الاستجابات الحيوية التى كانـت ترجع فى السابق إلى JA / MeJA فى الحقيقة تعال بواسطة JA – Ile أو غيـره مـن مقترنات الحمض الأمينى لحامض الجسمونيك . اتساقاً مع هذه الملاحظة فـإن التـداخل الطبيعى بين COII ومخفضات التعبير الجينى المعتمد على الجاسمونيك والتى تؤدى إلى انهيار البروتينات الخافضة المعتمدة على البروتياسوم وقد اتضح حديثاً أنها تحفز بواسطة JA-ILe وليس بواسطة JA أو Me JA . كفاءة Me JA الخارجيـة كمحفـز للتعبيـر الجينى قد تعكس قابليته للنفاذية السهلة من الأغشية الخلوية (الـشكل ٢-٢) . بمجـرد دخولها للخلية فإن Me JA يميل للتحول إلى JA بواسطة الاسـترازات المتخصـصة أو غير المتخصصة متبوعة بالتحول إلى JA – Ile بواسطة JARI . استخدام طفـرات Jar فى تجارب التطعيم معاً مع القياس المباشر لمستويات JA – Ile فى إخراجـات اللحـاء والأنسجة المجروحة مما يعطى الوعد بتقديم رؤى إضافية عن دور هذه المقترحات الفعالة حيوياً فى مسار التأشير بالجروح .

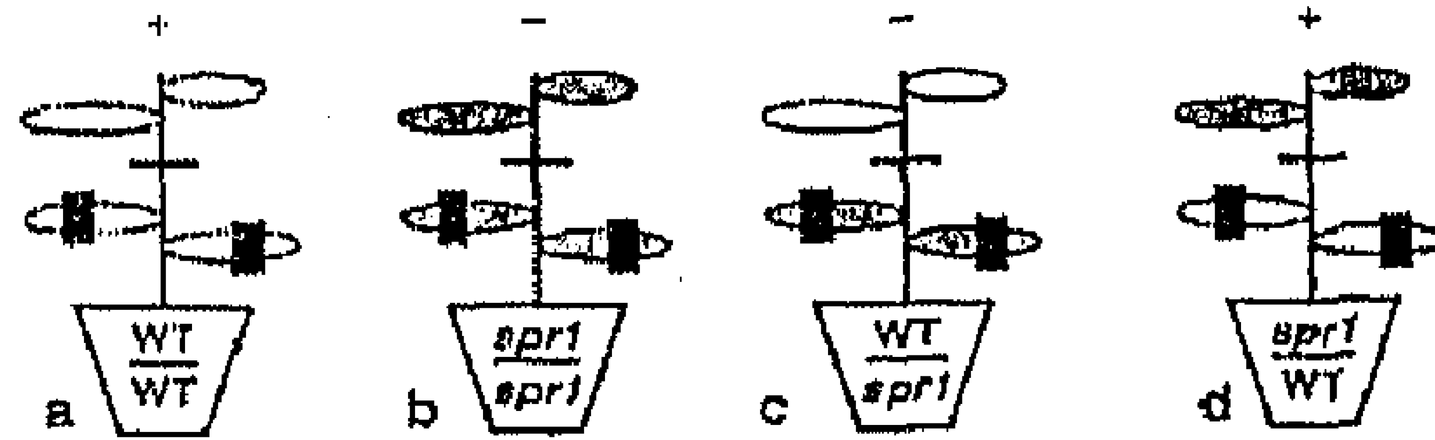
A. Grafting with a jasmonate perception mutant



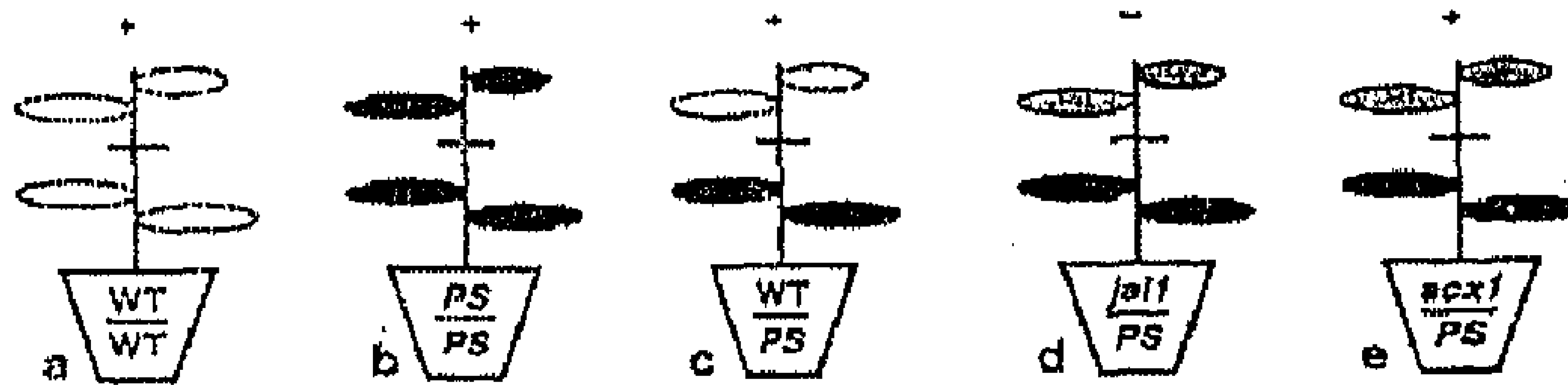
B. Grafting with a JA biosynthesis mutant



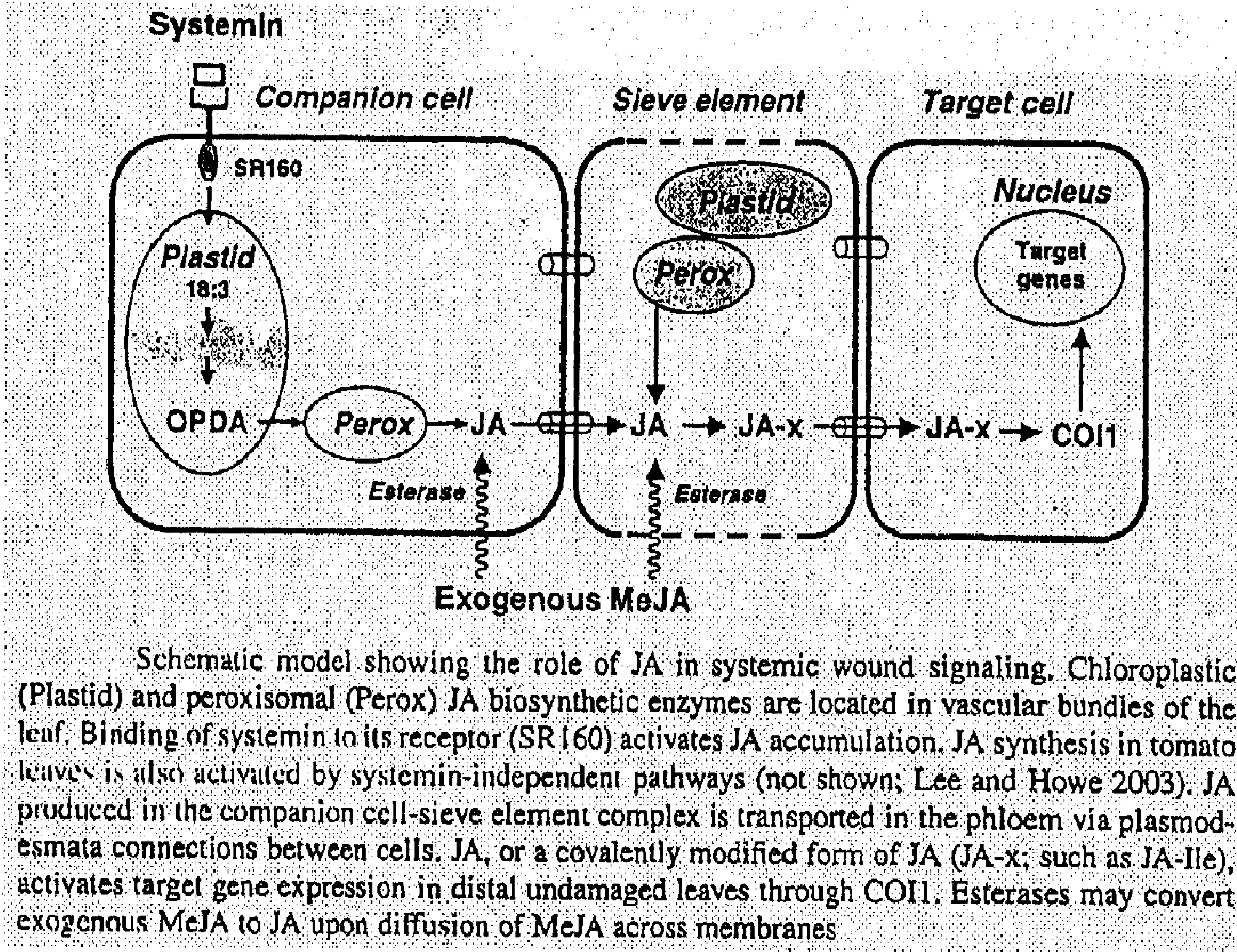
C. Grafting with a systemin-insensitive mutant



D. Grafting with a prosystemin-overexpressing mutant



شكل (٢-١) : رسم توضيحى لتجارب التطعيم التى أستخدمت لدراسة دور حمض الجسمونيك فى التأشير الجهازى فى الطماطم . المطعوم والطعم للطرز الوراثى الموضح موصولة عند وصلة التطعيم (القضيب الأفقى) . التجارب الموضحة فى BF , A وأوراق الطعم جرحت (المظللة) والتعبير الجينى PI فى أوراق المطعوم السليمة تم قياسها بعد ٨ ساعات . (A) عبارة عن طفرة JaiI استخدمت لدراسة دور إدراك الجاسمونات فى التأشير الجهازى بالجرح . B عبارة عن طفرة Acx I التى استحدث لدراسة دور تخليق JA فى التأشير الجهازى بالجزح . (C) عبارة عن طفرة Spr I التى استخدمت لدراسة دور إدراك السستمين فى التأشير الجهازى . بالنسبة للتجارب فى (D) لم تحدث جروح لأن خط النقل الجينى 35S :: prosys (ps) ينتج إشارة جهازية + و – تدل على التعبير أو نقص التعبير على التوالى لمثبط البروتينيز PI فى أوراق المطعوم السليمة . الأشكال البيضاوية غير المظللة ترتبط بالنوع البرى من الأوراق (WT) . الأشكال البيضاوية المظللة تشير إلى الأوراق على الطفرات Jail , AcxL أو sprI) التى لا توجد مع التأشير الجهازى بالجروح . الأشكال البيضاوية السوداء تشير إلى الأوراق على خط النقل الجينى 35S : : Pgsys .



Schematic model showing the role of JA in systemic wound signaling. Chloroplastic (Plastid) and peroxisomal (Perox) JA biosynthetic enzymes are located in vascular bundles of the leaf. Binding of systemin to its receptor (SR160) activates JA accumulation. JA synthesis in tomato leaves is also activated by systemin-independent pathways (not shown; Lee and Howe 2003). JA produced in the companion cell-sieve element complex is transported in the phloem via plasmodesmata connections between cells. JA, or a covalently modified form of JA (JA-x; such as JA-Ile), activates target gene expression in distal undamaged leaves through COI1. Esterases may convert exogenous MeJA to JA upon diffusion of MeJA across membranes

شكل (٢-٢) : نموذج توضيحى عن دور حمض الجسمونيك فى التأشير الجهازى بالجروح . إنزيمات التخليق الحيوى لحمض JA الكلوروبلاستيدى (بلاستيد) والبيروكسيسوبال (بيروكس) تقع فى الحزم الوعائية للورقة . ارتباط السيستيمين لمستقبله (SR 1600) ينشط تراكم JA . تخليق حمض الجسمونيك فى الطماطم ينتج فى تصاحب مع معقد عنصر غربلة الخلية ينتقل فى اللحاء خلال البلازموديستيماتا الرابطة بين الخلايا . حمض الجسمونيك أو الصورة المحورة الرابطية للحامض (JA – x) مثل JA – Ile تنشط تعبير الجين المستهدف فى الأوراق السليمة البعيدة خلال COII . الاسترازات قد تحول حمض الميثيل MeJA الخارجى إلى JA بمجرد الانتشار للحمض MeJA عبر الأغشية .

٣-٣- تكبير إشارة الجاسمونات بواسطة السيستيمين

تنشيط تعبير مثبطات البروتينيز PI بواسطة السيستيمين تتطلب تخليق والفعل المتتابع لحمض الجسمونيك . فى اتجاه التأشير بالجروح لمسافات بعيدة فإن هذا الدور للسيستمين يعاد توافقه مع دراسات التطعيم المذكورة أعلاه إذا تم التسليم بأن السيستيمن ينشط تخليق حامض JA عند أو بالقرب من موضع تلف النسيج . هذا النموذج يتوافق مع دراسات التطعيم مما يوضح أن الطعم المنقول جينيا Prosys : : 35 S يخلق أو يولد إشارة جهازية تنشط تعبير PI فى أوراق المطعوم البرى . تمييز الإشارة المشتقة 35 S : : Prosys فى أوراق المطعوم تسد بواسطة JaiI وليس بواسطة الطفرات مثل AcxI التى تحدث خلل فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك JA (الشكل ١-١ CDC) . لقد أدت هذه النتائج إلى الاقتراح بأن الأنسجة التى تعبر عن Prosys : : 35S تركيبيا تخلق حمض JA والذى يتحرك حينئذ إلى أوراق المطعوم حيث تبدأ الاستجابات التى تعتمد على COIL فى الخلايا المستهدفة . هذا النموذج يتوافق مع ملاحظة أن تراكم 35 S : : iprosys فى النباتات تزيد من مستويات حامض JA فى غياب الجروح . تنشيط تعبير PI فى المطعوم ناقص JA (الشكل ١-١ IDE) يوضح أن الإشارة لمسافة طويلة الناتجة بواسطة الطعم Prosys : : 35 S لا ترتبط بالسيتيمين ولكن الإشارة التى تنشط تعبير PI فى غياب تخليق JA الجديد .

دور السيستيمن فى إنتاج حمض الجسمونيك JA الموضعى يتفق مع النتائج التى تحصل عليها من تحليل طفرة Spr I غير الحساسة للسيستمن . طفرات Spr I تعبر عن جينات PI . استجابة للإثارة بواسطة بروتينات OGA , JA وليس استجابة للسيتيمن والبروسيستيمن . يفترض أن Spr I مطلوبة فى خطوة التأشير التى تربط إدراك السيتيمين عند غشاء البلازما لتنشيط تخليق JA فى الكلوروبلاست . من المثير للاهتمام أن التعبير الجهازى PI فى نباتات SprI تتلف بدرجة أكثر عما هو الحال مع الاستجابة الموضعية . هذا الطراز الفينولوجى تشابه بدرجة كبيرة النباتات المضادة للحساسية Prosys وتقدم دليل بأن البروسيستيمن يعمل أساسا فى الاستجابة للمسافات الطويلة . لقد قدمت تجارب التطعيم دليل على أن وظيفة Spr I (مثل إدراك السيستيمن) يشترك أوليا فى توليد الإشارة الجهازية فى الأوراق المجروحة وليس مطلوبا لتمييز الإشارة فى الأوراق غير التالفة المستجيبة (شكل ١-١ IC) الاستنتاج الأكثر استقامة لهذه النتائج يشير إلى أن البروسيستيمن تعمل عند أو بالقرب من مكان الجرح لتكبير تراكم حمض الجسمونيك JA وتقوية الاستجابة الجهازية .

لقد أتضح أن الإشارات العديدة التى تتضمن JA ، سيستمين وفوق أكسيد الأيدروجين تتداخل خلال نظام شريط الإمداد لتكبير الإشارة ذات المسافة الطويلة عن طريق اللحاء . هناك حاجة لدراسات مستقبلية لفهم كيف أن هذه الإشارات تتداخل مع بعضها البعض لتحفيز الاستجابة الجهازية للجروح وتقدير أى من هذه الإشارات التى تحفظ وظيفياً فى الأنواع النباتية الأخرى . غياب سلاسل جين Prosys خارج العائلة الباذنجانية أدت إلى الاقتراح بأن السيستيمن قد يشترك فى مدى ضيق من النباتات وربما كميكانيكية لتكبير استجابات الدفاع الجهازية ضد هجوم الحشرات . ملاحظة أن عمل السيستيمين يحدث سريعاً ثم تعضيده بواسطة الدراسات الحديثة موضحاً أن سلسلة السيستيمين فى نبات سولانم ينجرم لا يشترك فى استجابات الدفاع المباشرة التى تحفز بالجروح . التاشير المعتمد على الجاسمونات من جهة أخرى يبدو أنه يلعب دوراً محورياً فى تنظيم الاستجابات للضغوط الحيوية فى جميع النباتات . الأدلة المتزايدة تشير إلى أن دور الجاسمونات فى تحفيز الدفاع الجهازى قد يكون أكثر عمومية عما كان يعتقد فى السابق . هذه النتائج المتجمعة تؤيد صلاحية المفهوم الأصلى للباحث Ryan's الذى نادى بأن الإشارات الكيميائية التحذيرية التى تنتج عند السطح بين النبات والآفة تعول المناعة الجهازية للضغوط أو الإجهادات الحيوية .

٤- المنظورية Perspectives

منذ الاكتشاف الأول للعالم Ryan ومعاونوه عن الهضم ومثبطات البروتينيز الاختزالية كوسيلة دفاع محفزة فى العائلة الباذنجانية منذ ٣٥ عاماً فإنه تم تعريف ميكانيكيات التحفيز للدفاع المباشر ضد آكلات الأعشاب الحشرية خلال المملكة النباتية من الطحالب الخضراء وحيدة الخلية وحتى الأشجار . لقد تم تعريف وفرة من عوامل المقاومة المورفولوجية والكيميائية المحفزة التى تحفز تيسر المواد الغذائية (مثل غرس السليكا لمعاودة التعضيد تركيبياً ، نواتج تمثيل ثانوية مضادة للتغذية والبروتينات) أو تكون سامة ضد آكلات العشب (مثل نواتج التمثيل الثانوية بما فيها التربينويدز ، الفينولات والالكالويدز) . دراسات الترتيب الدقيق العديدة التى استهدفت عند تحليل التغيرات العالمية فى التعبير الجينى بعد الإصابة بآكلات النباتات قد أكدت التعبير المحفز للعديد من جينات الدفاع . بالإضافة إلى ذلك فإن إعادة البرمجة المكثفة للتعبير الجينى التى لوحظت فى هذه الدراسات أدت إلى الاقتراح بأن هجوم آكل النبات يؤدى إلى التغير من التمثيل النباتى فى اتجاه النمو الموجه إلى اتجاه الدفاع الموجه . عدد الجينات المحفزة بآكلات العشب يبدو أنها تزيد بشكل كبير المتطلبات الخاصة بالصفات المعروفة للمقاومة مما أدى إلى الاقتراح بأن المكونات الإضافية للدفاع المحفز تظل فى ناحية الاكتشاف . فى الحقيقة فإنه بالإضافة إلى التداخل المباشر مع سلوك أومورفولوجي آكل العشب فإن النباتات قد تستخدم الأرض المحروقة أو استراتيجيات الهروب كوسائل دفاع مكملة . المصادر

الكربونية والنتروجية القيمة تتحرك فى الأعضاء التى أضيرت بآكل العشب ومن ثم تستخدم فى تخليق عوامل المقاومة أو تخزن بعيداً من الوصول لآكل العشب . من المفترض أن الأعضاء النباتية ناقصة التغذية سوف تعضد بشكل فقير نمو وتطور آكلات العشب المهاجمة . إعادة وضع المصادر المتحركة للتخزين المؤقت للبروتينات (بروتينات التخزين الخضرية ومثبطات البروتينيز) و / أو أعضاء التخزين تحت الأرض (البصلات والدرنات) والتى تعضد إعادة النمو لاحقاً وقد تسمح للنباتات بالهروب من آكلات العشب فى الوقت المناسب . فى الحقيقة فإن إدخال الكربون المحفز إلى الجذور استجابة لهجوم آكل العشب لوحظ حديثاً فى نباتات نيكوتينيا أتينيواتا مما يؤدى إلى تأخير الشيخوخة وإطالة مرحلة التكاثر . نقل السكروز للجذور وجدت متحكم فيهما بواسطة SNPKI وهو البروتين كينيز الذى ينظم بسرعة فى الأوراق بعد هجوم ماندوكا سيكستا . هذه الدفاعات اللطيفة مازالت غير مفهومة جيداً على المستوى الجزيئى وسوف تظل مجال مثير للدراسات فى المستقبل .

لقد حدث تقدم مذهل فى مجال حوادث التأشير التى تؤدى إلى التعبير الجهازى عن صفات الدفاع استجابة لهجوم آكلات العشب . هذا يتضمن اكتشاف السيستمين كأول ببتيد له نشاط مشابه للهورمون فى النباتات والتى يعتقد الآن أنها تعمل فى منطقة موقع الجرح لتعظيم إنتاج الإشارة للمسافات الطويلة فى النظام الوعائى . ولو أن جزىء الإشارة الجهازى مازال تحت التعريف فإن الدليل الحديث يقترح أن حمض الجسمونيك JA أو ناتج تمثيل JA ومن الممكن JA – Ile قد تعمل كإشارة متحركة فى اللحاء . إدراك الجاسمونات وتنشيط جينات الدفاع فى الأنسجة المستهدفة أتضح أنها تعتمد على COI 1 وهى جزء من E3 ubiquitin ligase أو (SCFCOI1) والذى تم التنبؤ على أنه يقود حامض تأشير JA للانهيار بواسطة مسار البروتيوسوم – يوبيكوتين .

قائمة المراجع

References

Agrawal A.A. (1998). Induced responses to herbivory and increased plant performance. Science 279: 1201-1202.

Agrawal A.A. (1999). Induced plant defense: evolution of induction and adaptive phenotypic plasticity. In: Agrawal A.A., Tuzun S, Bent E (eds) Induced pant defenses against [pathogens and herbivores: biochemistry ecology and agriculture. APS Press, Minnesota, pp 251-268.

Baldwin IT (1998). Jasmonate-Induce responses are costly but benefit plants under attck in native populations. Proc. Natl. acad. Sci. USA 95: 8113-8118.

Bennett R.N., Wallasgrove RM (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. New Phytol. 127: 617-633.

Carrera E, Prat S (1998). Expression of the Arabidopsis abil-1 mutant allele inhbits proteinase inhibitor wound-induction in tomato. Plant J. 15: 765-771.

Carroll CR, Hoffman CA (1980). Chemical feeding deterrent mobilized in response to insect herbivory and counteradapt-ation by Epilachna tredecimnotata. Science 209: 414-416.

Davis JM, Gordon MP, Smit BA (1991). Assimilate movement dictates remote sites of wound-induced gene expression in poplar leaves. Proc Natl Acad Sci USA 88: 2393-2396.

De Vos M, Van Oosten VR, Van Pecke RMP, Van Pelt JA, Pozo MH, Mueller MJ, Buchala AJ, Metraux JP, van Loon LC, Dicke M et al (2005). Signal signature and transcriptome changes of Arabidopsis during pathogen and inse3ct attack. Most Plant Microbe Int 18: 923-937.

Ehrlich PR, Raven PH (1964). Butterflies and plants: a study in coevolution. Ecology 18: 586-608.

Farmer EE, Ryn CA (1992). Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. Plant Cell 4: 129-134.

Feeny P (1970). Seasonal change in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. Ecology 51: 565-581.

Gatehouse JA (2002). Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. New Phytol 156: 145-169.

Giri AP, Wunsche H, Mitra S, Zavala JA, Muck A, Svatos A, Baldwin IT (2006). Molecular interactions between the specialist herbivore Manduca Sexta (Lepidoptera, sphingidae) and its natural host Nicotiana attenuata, VII. Changes in the plant's proteome. Plant physiol 142: 1621-2641.

Hause B, Hause G, Kutter C, Miersch O, Wasternack C (2003). Enzyme of jasmonate biosynthesis occur in tomato sieve elements. Plant Cell Physiol 44: 643-648.

Hessen DO, van Donk E (1993). Morphological changes in Scenedesmus induced by substances released from Daphnia. Arch hydrobiol 127: 129-140.

Ishiguro S, Kawai-Oda A, Nishida I, Okada K (2001). The defective in anther dehiscencel gene encodes a novel phospholipase al catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation,

anther dehiscence, and flower opening in Arabidopsis. Plant Cell 13: 2191-2209.

Kang J-H. Wang L, Giri A, Baldwin IT (2006). Silencing threonine deaminase and JAR4 in Nicotiana attenuata impairs jasmonic acid-isoleucine-mediated defenses against Manduca Sexta. Plant Cell 18: 3303-3320.

Karban R, Baldwin IT (1997). Induced responses to herbivory. University of Chicago Press, Chicago.

Lampert W, Rothhaupt KO, von Elert E (1994). Chemical induction of colony formation in a green alga (Scenedesmus acutus) by grazers (Daphnia). Limnol Oceanogr 39: 1543-1550.

Lawrence SD, Dervinis C, Novak N, Davis JM (2006). Wound and insect herbivory responsive genes in poplar. Biotechnol. Lett 28: 149-1501.

Lee GI, Howe GA (2003). The tomato mutant sprl is defective in systemin perception and the production of a systemic wound signal for defense gene expression. Plant J 33: 567-576.

ثانياً : الدفاع غير المباشر المحفز ضد آكلات العشب : من ميكانيكيات التحفيز حتى إيكولوجى الجماعة :

آكلات العشب قد تحفز دفاعات النبات التى تشجع نشاط الأعداء الطبيعية لآكلات العشب . هذا ما يطلق عليه الدفاع المحفز غير المباشر والذى قد يتضمن إنتاج المواد النباتية المتطايرة التى تجذب مفصليات الأرجل آكلات اللحوم أو الرحيق الذى يعتبر طعام بديل بواسطة آكلات اللحوم . الدفاع النباتى المحفز غير المباشر يعال بواسطة مسارات نسخ إشارية مختلفة مثل حمض الجسمونيك وحمض السلسليك ومسارات الاثيلين وقد تتضمن إعادة ترتيب النسخ على نطاق واسع . استجابات الدفاع المحفز غير المباشر فى النباتات تؤدى إلى طراز فينولوجى متغير ومن ثم تؤثر على تداخلات النبات مع مختلف أفراد الجماعة : يتم طرد المهاجمية ، انجذاب الأعداء الطبيعية (فوق وتحت الأرض) والملقحات قد تغير من زيارة الأزهار والنباتات المجاورة قد تستثمر المعلومات الواردة من النباتات التى هوجمت لبدء استجابات الدفاع كذلك . فى هذا المقام سوف نناقش العديد من الاقترابات التى يشيع استخدامها فى الدراسات الجزيئية والكيميائية والايكولوجية لدفاعات النبات المحفزة غير المباشرة وتعريف بعض الثغرات المعرفية واتجاهات البحوث فى المستقبل . تكامل الاقتراب الميكانيكية مع اقتراب الجماعة الايكولوجى يقدم تقدم هام فى فهم الضغوط أو الاجهادات الاختيارية وديناميكية التداخلات الايكولوجية التى تعال بواسطة الدفاعات النباتية المحفزة غير المباشرة وكذلك الميكانيكيات المرتبطة بها .

١ – مقدمة

النباتات تواجه العديد من التحديات طوال فترة حياتها . الجفاف والفيضان ودرجات الحرارة المرتفعة والمنخفضة أو الثدييات التى تلتهم النباتات جمعياً . برغم جميع هذه الصعوبات ولكى تتكاثر النباتات فقد طورت ميكانيكيات دفاعية لحماية أنفسها بخلاف الابتعاد بعيداً . دفاعات النباتات ضد مفصليات الأرجل آكلات العشب يمكن أن تقسم كدفاعات مباشرة direct defenses التى تؤثر على فسيولوجى المهاجمين أو دفاعات غير مباشرة التى تحفز فاعلية الأعداء الطبيعية لآكلات العشب (الشكل ٢–٣) . الدفاع غير المباشر يوفر :

أ – توفير المأوى مثل الأشواك المجوفة التى تستخدم بواسطة النمل كعشوش .

ب – إنتاج طعام بديل مثل الرحيق الذى يستخدم بواسطة مفصليات الأرجل آكلة اللحوم مثل النمل والدبابير الطفيلية .

ج – انبعاث مواد متطايرة نباتية محفزة لآكلات العشب والتى ترشد مفصليات الأرجل آكلات اللحوم مثل المفترسات والطفيليات لضحاياها من آكلات العشب.

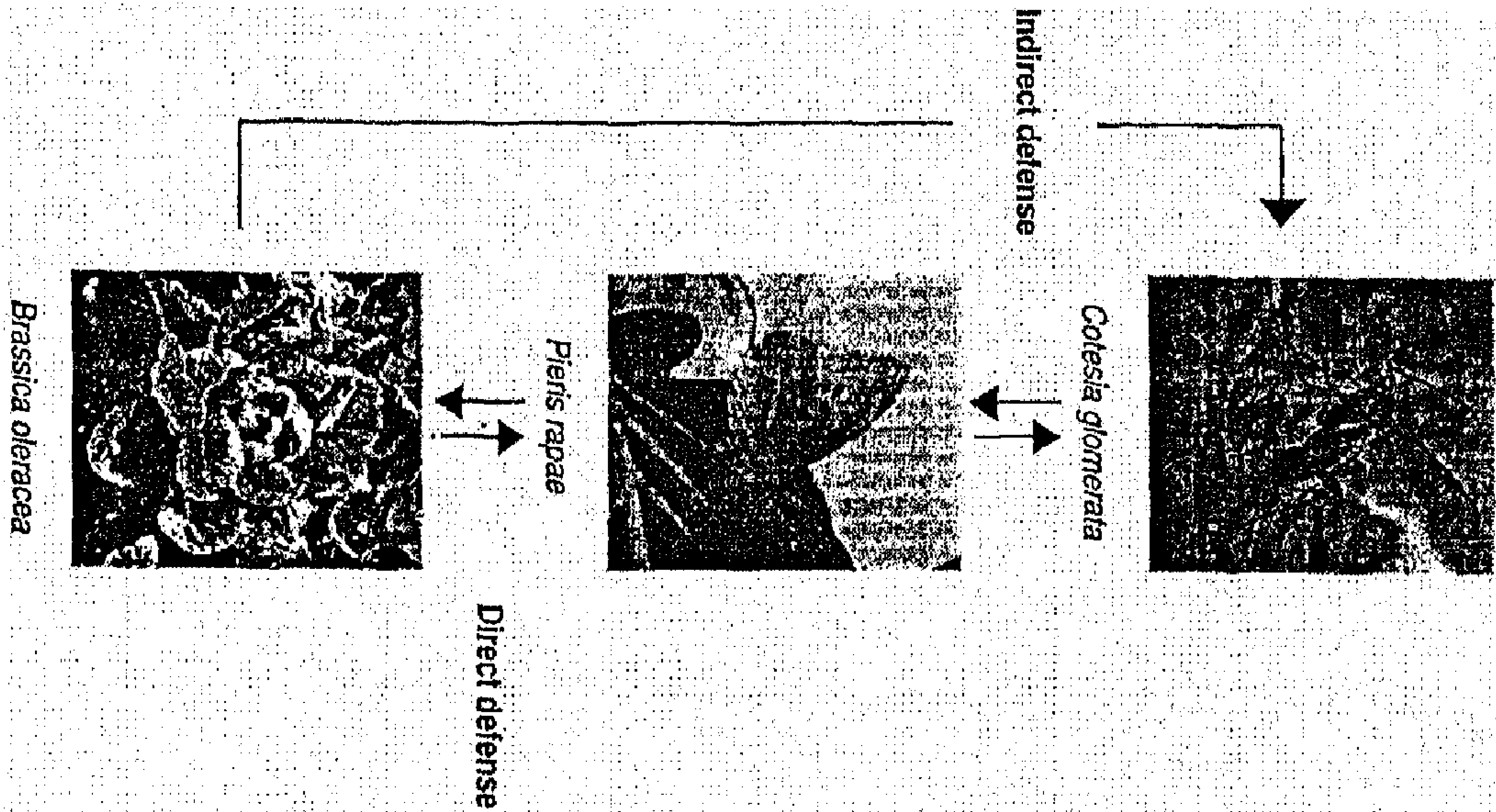
كل هذه العوامل تدعم وجود ووفرة الأعداء آكلات اللحوم لمفصليات الأرجل آكلات النباتات وما يستتبع ذلك من خفض وجود آكلات النباتات .

M. Dicke

Laboratory of Entomology . Wageningen University . 6709 PD Wageningen . The Netherlands .

e-mail : Marcel.Dicke@Wur.nl

A.Schaller (ed) , Induced Plant Resistamce to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008



شكل (٢-٣) : الدفاع المباشر للنبات له تأثير سالب على مهاجم النبات . الدفاع غير المباشر للنبات تصون أو تجذب آكلات اللحوم التى تستهلك أو تتطفل على مهاجم النبات ومن ثم تحقق تأثير سالب على المهاجم مما يساهم فى دفاع النبات .

أخذت الصور بواسطة :

Photographs were taken by Hans M. Smid (C. glomerata) , Nelly Cardinel (B. oleracea) and Maaike Bruinsma (P. rapae) .

فى هذا المقام سوف نناقش الدفاع غير المباشر خاصة الدفاع غير المحفز المباشر . آكلات العشب تحفز إنتاج الرحيق أو المواد النباتية المتطايرة ونتيجة لذلك تتغير فينولوجية النبات . الرحيق قد يعمل كغذاء لمختلف الحيوانات فى الجماعة والمواد المتطايرة تستخدم

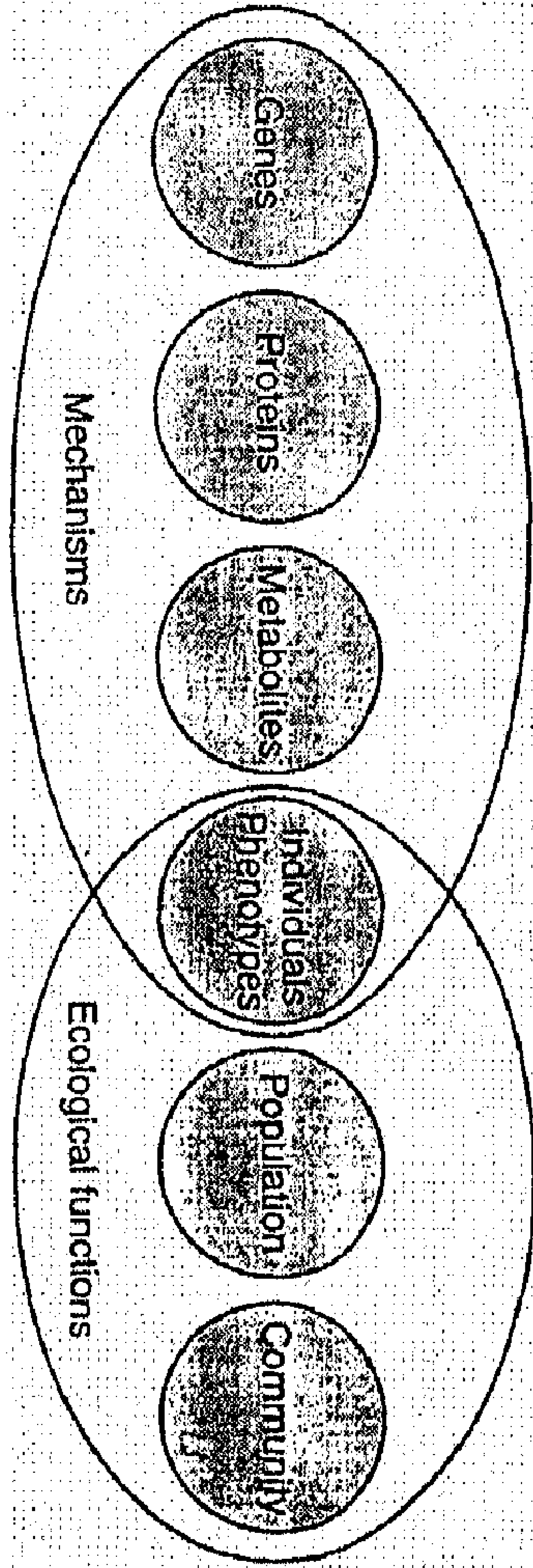
بواسطة الحيوانات كى تستوطن النبات . خلال المملكة النباتية فإن العديد من الأنواع وجد أنها تنتج كيميائيات معلوماتية محفزة بآكلات العشب تعمل على جذب الأعداء الطبيعية من آكلات اللحوم لمفصليات الأرجل آكلات الأعشاب . تأثير هذه التغيرات الفينولوجية على الأعداء الطبيعية آكلات اللحوم لآكلات النباتات لاقت الكثير من الاهتمام . على سبيل المثال نباتات فول الليما المصابة بالعناكب الحمراء يبدأ فى إنتاج مدى من المواد المتطايرة تتضمن التربينويدز والمثيل ساليسيلات والعديد منها بجذب الأكاروسات المفترسة التى تستهلك العناكب الحمراء أكولة النباتات . بالإضافة إلى ذلك فإن آكلات الأعشاب تحفز إنتاج الرحيق فى نباتات فول الليما وهذا يؤدى إلى زيادة أعداد ودوام زيارات النمل والدبابير . زيادة زيارة النبات بواسطة مفصليات الأرجل آكلة للحوم تؤدى إلى خفض كمية التلف فى الأوراق.

هذا ولو أن النباتات تمثل أساس معظم الشبكات الغذائية الأرضية سواء تحت أو فوق الأرض مع عدد وافر من التداخلات الحركية والايكولوجية . التداخلات الايكولوجية قد تتضمن تداخلات مباشرة مثل التداخلات بين المفترس والضحية أو التنافس بين آكلات الأعشاب وكذلك التداخلات غير المباشرة مثل التنافس الظاهر والتأثيرات غير المباشرة التى تعال بالصفات الخاصة . فى العديد من الدراسات فإن التداخلات بين الأنواع تعتبر واجبة الثبات : جميع الأفراد داخل المجموع تعتبر لها نفس الصفات وتتداخل بنفس الطريق مع الكائنات الأخرى . وهذا ولو أنه بسبب مرونة الفينولوجية فإن التداخلات داخل المجتمعات تعتمد على البيئة المحيطة والتى تشير إلى أنها لا تتأثر فقط بالطراز الجينى ولكنها تتأثر كذلك بالحالة الفسيولوجية وتيسر المصادر والتداخلات مع أفراد الجماعة . نتيجة لذلك فإن فهم تأثيرات المرونة الفينولوجية ذات أهمية لفهم حركيات الجماعة (شكل ٢-٤) .

ولو أن التغير الفينولوجى قد يؤثر على العديد من التداخلات فى الجماعة فإن الدفاعات النباتية غير المباشرة المحفزة بآكلات العشب درست فى السلاسل الغذائية البسيطة ثلاثية المستويات بدون الأخذ فى الحسبان . التأثيرات التى يمكن أن يحدثها على الأعضاء الأخرى فى الجماعة . دراسة تأثيرات التغيرات الفينولوجية على العمليات التى تحدث فى الجماعة واحدة من التحديات الكبرى التى يواجهها رجالات الايكولوجى فى البحوث عن الدفاعات النباتية التى تحفز من جراء الإصابة بآكلات الأوراق . فهم الضغوط الانتخابية وحركيات التداخلات الايكولوجية هام لفهم ايكولوجى ونشوء المجتمعات .

لدراسة التتابعات التى تحدث فى الجماعات للدفاعات النباتية غير المباشرة المحفزة فإن الفهم الواعى للميكانيكيات التى تحدثها ضرورية حيث أن المعلومات الميكانيكية تسمح

بتطور وسائل للمناورة . تجارب المناورة مهمة للوقوف على تأثيرات الدفاع المحفز على مدى من التداخلات الفردية أو على الحزمة الكلية من التداخلات .



شكل (٢-٤) : الدفاع غير المباشر المحفز يمكن أن يحدث عند مستويات مختلفة من التنظيم الحيوى بواسطة دراسة ميكانيكيات التحفيز عند مستويات مختلفة من الجينات حتى مستوى الأفراد أو بواسطة دراسة الوظائف الايكولوجية عند مستوى الأفراد حتى الجماعة . تكامل هذه الاقترابات أثبتت أنها الأكثر اكتسابا . المرونة الفينولوجية تلعب دوراً محورياً فى فهم كلا الميكانيكيات المعروفة للدفاع المحفز وتتابعات الدفاع المحفز لحركية الجماعة .

فى هذا المقام سوف نتناول ميكانيكيات النظم الدفاعية النباتية غير المباشرة المحفزة وكيف يمكن استخدام هذه المعلومات لدراسة التتابعات الايكولوجية لهذه الدفاعات على مستوى التداخلات الايكولوجية المتعددة والجماعة .

٢- تحفيز الدفاع غير المباشر فى النباتات :

آكلات النباتات تستطيع أن تسبب العديد من أنواع التلف والضرر على النباتات تبعاً لطبيعة التغذية التى تنتمى إليها . كمثال فإن الديدان تقوم بتناول قطاعات صغيرة من الأوراق بينما الحشرات الأخرى تتغذى على أجزاء خاصة من مادة الورقة : الحشرات صانعة الأنفاق تتغذى على النسيج البرانشيمى بينما المنّ يتناول اللحاء . الأنواع المختلفة من التلف قد تؤدى إلى استجابات دفاعية متنوعة فى النبات . فى هذا المجال سوف نناقش استجابات النبات والميكانيكيات المختلفة لتحفيزها .

٢-١- استجابة النبات :

فى استجابة مفصليات الأرجل آكولة النباتات فإن النبات قد ينشط العديد من مسارات نسخ الشفرات التى تشترك فى استجابة الدفاع : حامض الجسمونيك (JA) وحمض السلسليك (SA) والايثلين (ET) . مسارات التشفير هذه تحفز بشكل متفاوت بواسطة عاملات التغذية المختلفة أو التلف الاصطناعى . مسارات النقل الثلاثة للإشارات تتداخل كذلك : حمض JA يثبط تأثير SA وحمض السلسليك SA يتداخل مع التحفيز المعال بحمض JA . على نفس المنوال فإن حمض الجسمونيك JA والاثيلين ET يؤثر تنشيطياً على تحفيز تعبير الجينى للدفاع فى نباتات الطماطم بينما الاثيلين يثبط تأثير JA على تحفيز النيكوتين فى نباتات الدخان .

مسار النقل الإشارى الأكبر الذى تتضمن استجابات النباتات لآكلات الأوراق الحشرية هى مسار حامض الجسمونيك أو مسار الأوكتاديكانون (جدول ٢-٢) . الأوكتاديكانويدز تخلق من الحمض الدهنى المحتوى على ١٨ ذرة كربون وهو حمض لينولينيك الذى ينفرد من ليبيدات الغشاء استجابة للتنشيط المرتبط مع الجروح . خلال مسار الأوكتاديكانويد مع ١٣- هيدروبيروكسى لنولينيك آسيد والأوكسو – فيتوديونيك آسيد (OPDA) وغيرها من المركبات كوسائط والهورمون النباتى حامض الجسمونيك الذى ينتج . أفراد هذا المسار ذات أنشطة حيوية مختلفة . حمض الجسمونيك JA يحفز عدد كبير من الجينات وإطلاق خليط من المواد المتطايرة المتشابهة ولكنها غير متطابقة مع الخليط الذى يحفز بواسطة آكلات النباتات . حمض الجمسونيك لا يؤثر فقط على تحفيز الدفاعات ولكن على عمليات التطور وخصوبة الذكور . حمض OPDA يحفز كذلك التعبير الجينى وانبعاث المواد المتطايرة وهى أقل فاعلية بالمقارنة بحامض الجسمونيك .

حامض JA يتحول إلى مثيل جاسمونات أو سيس جاسمون وكلاهمـــا يـــستطيعا تحفيــز الدفاعات فى النباتات .

جدول (٢-٢) : مسار الأوكتاديكونون وتأثير المناورة بالخطوات المختلفة على انبعـــاث المواد المتطايرة من فول الليما على جذب الأعداء الطبيعية لمهاجمى فول الليما

Octadecanoid pathway	Elicitation → / Inhibition ⊣--◆	Manipulation with	Volatile emission in response to manipulation	Carnivore attraction
Herbivory				
linolenic acid	→	Linolenic acid	DMNT, TMTT[1]	n.t.
13-hydroperoxylinolenic acid	⊣--◆	Phenidone	No volatile production upon elicitation after pretreatment with inhibitor[1]	n.t.
12,13-epoxy-octadecatrienoic acid	⊣--◆	DIECA	No volatile production upon elicitation after pretreatment with inhibitor[1]	n.t.
12-oxo-phytodienoic acid (OPDA)	⊣--◆	*n*-propyl gallate	No volatile production upon elicitation after pretreatment with inhibitor[1]	n.t.
	→	OPDA	DMNT, TMTT[1,4]	Yes[2]
jasmonic acid (JA)	→	Jasmonic acid	Similar blend as that induced by spider mite infestation[3] Hexenyl acetate, β-ocimene, linalool, DMNT, $C_{10}H_{14}$, $C_{10}H_{16}O$ indole[1]	Yes[2,3]
methyl jasmonate (MeJA)	→	Methyl jasmonate	n.t.	Yes[3]

References: [1] Koch et al. 1999; [2] Dicke and Van Poecke 2002; [3] Dicke et al. 1999; [4] Boland et al. 1999; n.t. = not tested

تثبيط Inhibition

تحفيز Elicitation

المناورة بواسطة Manipulation with

انجـــذاب آكـــلات النباتـــات Carnivore attraction

انبعـــاث المـــواد المتطـــايرة Volatile emission

من حامض ١٣- هيدروبيروكسى لينولينيك توجد فرع جانبى لمسار أوكتاديكانويـــد يؤدى إلى إنتاج ما يعلق عليه المواد المتطايرة للأوراق الخضراء GLVs 0) مثـــل C6 كحولات ، C6 الدهيدات ومشتقاتهم من الخلات . هذه المركبات تـــستطيع جـــذب كـــلا مفصليات الأرجل آكلة النباتات وآكلة الحيوانات من جانب واحد وتدفع النباتات المجـــاورة

لتحفيز الدفاعات من جهة أخرى . بالإضافة إلى مسار أوكتاديكانويد فإن الجروح تعمل كذلك على تحفيز مسار هكساديكانويد بداية من حامض (z) 13 , (z) 10 , (z) 7 هكساديكاترينويك الذى يقود إلى حمض الجسمونيك (JA) . تحفيز كلا المسارين قد تؤدى إلى توقيعات أوكسى ليبين الخاصة الذى يسمح للنباتات لعمل نغمة صافية لاستجابتها للجروح أو هجوم آكلات النباتات . تنشيط مسارات نسخ الإشارات قد يؤدى إلى تحفيز الدفاع المباشر وغير المباشر . العديد من أنواع نواتج التمثيل الثانوية تشترك فى الدفاع المباشر التى تحدث عند حدوث التلف من جراء الإصابة بآكلات النباتات وكمثال المركبات غير المتطايرة مثل مثبطات البروتينيز الجلوكونيولات والألكالويدز . كاستجابة دفاعية غير مباشرة فإن النباتات تستطيع إنتاج المواد المتطايرة مثل الكحولات والاسترات والتربينويدز أو الغذاء البديل مثل الرحيق . النباتات المحفزة تستطيع إنتاج إما نفس المواد المتطايرة كما فى النباتات غير المحفزة ولكن بكميات مختلفة أو نسب مختلفة أو قد تستطيع إنتاج مواد متطايرة جديدة التى لا تنبعث بواسطة النباتات السليمة . هذا ولو أنه خلال نوعى الاستجابات تقوم النباتات بإنتاج نواتج تمثيل جديدة مما يوضح نوع من الاستثمار فى الدفاع عما هو الحال مع مجرد انطلاق سلبى للمركبات .

إسهام مسار حمض الجسمونيك JA فى تحقيق الدفاع غير المباشر درست باستفاضة فى أوساط التداخلات ثلاثية التغذية . حمض الجسمونيك نفسه ليس جاذباً أو طارداً ولكنه يحفز عمليات التخليق الحيوى فى النباتات (مثل إنتاج الكيميائيات المعلوماتية المتطايرة) التى تسبب استجابات سلوكية فى الحشرات . تفاعلات الدفاع المحفزة بحمض الجسمونيك قد تقوم بطرد آكلات النباتات أو جذب أعدائها الطبيعية . بالإضافة إلى التأشير بحمض الجسمونيك فإن التداخلات ثلاثية التغذية أظهرت أنها تشترك فى مسار SA . إنتاج ميثيل ساليسيلات (MeSA) يحفز بواسطة الإصابة بالعنكبوت الأحمر فى فول الليما والطماطم وتجذب الأعداء الطبيعية للأكاروسات .

ميكانيكية الدفاع غير المباشرة الأخرى تتضمن تأشير حمض الجسمونيك JA والتى تتمثل فى إنتاج غذاء بديل مثل الرحيق التى يمكن Entra Floral nectar (EFN) أن يستخدم بواسطة أعضاء المستوى الثالث من التغذية . EFN تفرز من غدد الرحيق خارج الأزهار والتى يمكن أن تحدث على التبلات . تركيب الرحيق يختلف بشكل كبير بين غدد الرحيق للنبات الواحد . إنتاج EFN يزداد بمجرد مهاجمة آكلات النبات . المستوى الأعلى للرحيق يوجد فى الأوراق حيث تتغذى آكلات الأوراق ولكنها يمكن أن تزيد كذلك فى الأوراق الجهازية . التجريح واستخدام حمض الجسمونيك يزيد من إنتاج الرحيق EFN . علاوة على ذلك فإن إفراز الرحيق يقل بواسطة الفينيدون وهو مثبط للخطوة المبكرة فى مسار أوكتاديكانويد (جدول ٢-٢) مما يعضد دور حمض الجسمونيك JA فى تحفيز إفراز EFN . الرحيق EPN يعمل كمصدر غذائى بديل وقد يزيد من دوام

المفترسات التى تزود النباتات . المفترسات تنتشر ببطء أكثر من النباتات التى فيها رحيق أكثر بالمقارنة بالنباتات ذات الرحيق القليل والنباتات قد تستفيد من وجود المفترسات .

٢-٢- التحفيز بواسطة آكلات النباتات

عندما تتغذى آكلات النباتات على النبات سواء عن طريق القرض أو تناول الرحيق أو التغذية على محتويات الخلية فإنها تحفز مسارات التأشير للهورمونات النباتية Phytohormone وبالتبعية تحفز استجابة النبات . التأشيرات المحفزة بالهورمونات النباتية متخصصة تبعاً لنوع المهاجم : نوعياً وكمياً ومؤقتاً . أظهرت الدراسات العديدة تخصصية المهاجم عند مستوى التعبير الجينى الشامل ولو أن بعض الدراسات الأخرى أظهرت استجابات استنساخ مشابهة بعد الهجوم بواسطة آكلات النباتات المختلفة . المواد المتطايرة النباتية المحفزة بواسطة آكلات النبات يمكن أن تكون متخصصة تبعاً لنوع آكل النبات وحتى طور آكل النبات الذى يتغذى على النبات .

المجاميع الرئيسية للمواد المتطايرة النباتية التى تحفز بواسطة آكلات النباتات هى عبارة عن المواد المتطايرة من الأوراق الخضراء والتربينات والفينولات . تحفيز انبعاث المواد المتطايرة يعال بواسطة تحفيز المسارات الثلاثة الرئيسية لنقل الإشارات وهى ET , JA , SA والتى تحفز بشكل مختلف بواسطة الحشرات ذات عادات التغذية المختلفة . فى فول الليما كمثال فإن تأشير حمض الجسمونيك JA مسئول عن إنتاج المواد المتطايرة المحفزة استجابة للتلف بواسطة الديدان بينما أن كلا JA , SA تعول الاستجابة ضد ضرر العنكبوت الأحمر . فى أنواع نباتيةاخرى مثل ميديكاجو ترانكاتيولا تقوم الديدان والعناكب الحمراء بالتحفيز الكمى والنوعي لنظم المواد المتطايرة المختلفة . كلا حمض الجسمونيك وحمض السلسليك تتراكم استجابة للضرر ولكن التراكم يختلف بين الهجوم بالحشرات القارضة والثاقبة الماصة . لقد وجد أن تراكم SA كان عالياً استجابة للإصابة بالعنكبوت الأحمر بالمقارنة بالضرر الذى تحدثه الديدان بينما تراكم حمض الجسمونيك يختلف فى التوقيت لكلا طريقة الهجوم . على نفس المنوال فإن التغيرات المحفزة فى التعبير الجينى فى نبات أرابيدوبسيس ثاليانا أظهرت اختلافات بين نظم التغذية . أظهرت خمسة مهاجمات ذات طرق مختلفة للهجوم تتراوح من آكلات الأوراق القارضة وحتى الممرضات التى تسبب مواضع نكرزة درجات مختلفة من التحفيز النسبى للمسارات الثلاثة الهامة لنقل التشفير . بوجه عام يبدو أن استجابة النباتات لآكلات النباتات التى تتغذى على عصارة اللحاء مشابهة كثيراً لاستجابة الهجوم بالممرضات بينما آكلات النباتات قارضة الأوراق تحفز المسارات وتنشط بحدوث الجروح .

٢-٣- الجروح الميكانيكية فى مقابل هجوم آكلات النباتات Herbivory

عندما تهاجم آكلات النباتات تحدث تلف طبيعى وهى نفسها تحفز حزمة من الاستجابات ضد آكلات النباتات . فقد الماء عند موضع الجرح يؤدى إلى ضغط أسموزى ومن ثم يحدث تداخل واضح بين استجابات النباتات للجروح والجفاف بالإضافة إلى ذلك فإن استجابات النباتات للمركبات المشتقة من آكلات النباتات توجد فى الإفرازات الفمية . التلف الطبيعى والمحفزات من آكلات النباتات كلاهما مسئول عن جزء من استجابة التحفيز النباتية لآكلات النباتات . فى العديد من الأنواع النباتية فإن الاستجابة للضرر الميكانيكى تختلف عن تلك الناتجة من هجوم آكلات النباتات . قد يرجع هذا فى جزء منه إلى الصعوبات التقنية فى المحاكاة الدقيقة لما تحدثه آكلات النباتات . التلف الميكانيكى يختلف من التلف الذى تحدثه آكلات الأوراق فى كمية النسيج المزال وعمر النسيج والنظام المكانى للتلف وتوقيت حدوث التلف . النظام الزمنى أو المؤقت للتلف الميكانيكى فى الحقيقة أظهر أنه عامل هام يؤثر على درجة التلف . عندما تستخدم قىء آكل النبات على الأوراق التالفة ميكانيكياً فإن استجابة النبات تكون مشابهة للاستجابة لآكل النبات . كمثال فإن التلف الميكانيكى من جراء المعاملة المتتابعة بقىء الحشرات يحفز استجابات خاصة للنباتات نيكوتيانا أتينيوتيا . العديد من المركبات الفعالة تم تعريفها فى إفرازات الفم للحشرات المتغذية . كمثال الإنزيم بيتا – جلوكوسيديز وكذلك المركب Volicitin (ناتج اقترانى أو متحول من حمض دهنى – حمض أمينى وتختصر FAC) تحفز إنتاج المركبات المتطايرة عندما تضاف لنباتات الكرنب والذرة التالفة ميكانيكياً على التوالى . لقد وجدت FAC فى جميع يرقات رتبة حرشفية الأجنحة التى درست أخيراً . النباتات لا تستطيع تمييز الفروق بين الجروح الميكانيكية وما يحدث مع آكلات النباتات وكذلك بين أنواع آكلات النباتات المختلفة حتى لو كانت من نفس النظام الغذائى . لقد أتضح ذلك مع نبات N. Attenuate حيث اختلفت استجابة النبات لآكل نبات خاص عن الاستجابة لآكلات النباتات العامة وكانت اختلافات الاستجابة راجعة إلى تركيب FAC فى قىء آكلات العشب . دور إفرازات الفم فى تحفيز استجابات الدفاع النباتية نوقشت بالتفصيل بواسطة Felton .

الاختلاف بين التحفيز بعد التلف الميكانيكى وتلك الناجم من تغذية الديدان ظهر عند مستوى التغبير الجينى فى نبات A.thalinana . التلف الميكانيكى وتغذية الديدان كلاهما يحفزان جينات الاستجابة بالجسمونات وتؤدى إلى تراكم حمض الجسمونيك . هذا ولو أن التلف الميكانيكى يحفز تعبير جين علامة الاستجابة الجسمونات PDF 1.2 بينما تغذية الديدان منخفض كذلك تحفيز هذا الجين . تحفيز جين الدفاع PDF 1.2 ينخفض كذلك عندما أضيف قى ءالديدان على الأوراق التالفة ميكانيكياً مما يوضح الدور الذى تلعبه المحفزات قىء الديدان فى تنظيم استجابات الدفاع النباتية . الجينات الثلاثة لاستجابة

حمض الجسمونيك تحفز بواسطة تغذية الديدان ولكنها لا تحفز بواسطة الجرح الميكانيكى مما يوضح كيف أن آكلات النباتات والجروح تحفز بشكل مختلف التعبير بالجينات الخاصة . فى نباتات A.thalinana تزداد مستويات JA الداخلية بعد الجروح وتزداد أكثر عندما يستخدم إفراز الفم على الجروح . لقد لوحظ نفس النظام مع انبعاث الاثيلين فى هذه النباتات. النباتات التالفة المثقبة التى عوملت بالإفراز الفمى تبعث بصفة مؤقتة كثير من الاثيلين عما هو الحال مع النباتات الثلاثة التى عوملت بالماء بينما انبعاث الاثيلين بمجرد هجوم آكلات النباتات يزداد طالما استمر آكل النبات فى الهجوم والوجود .

٢-٤- التحضير Priming

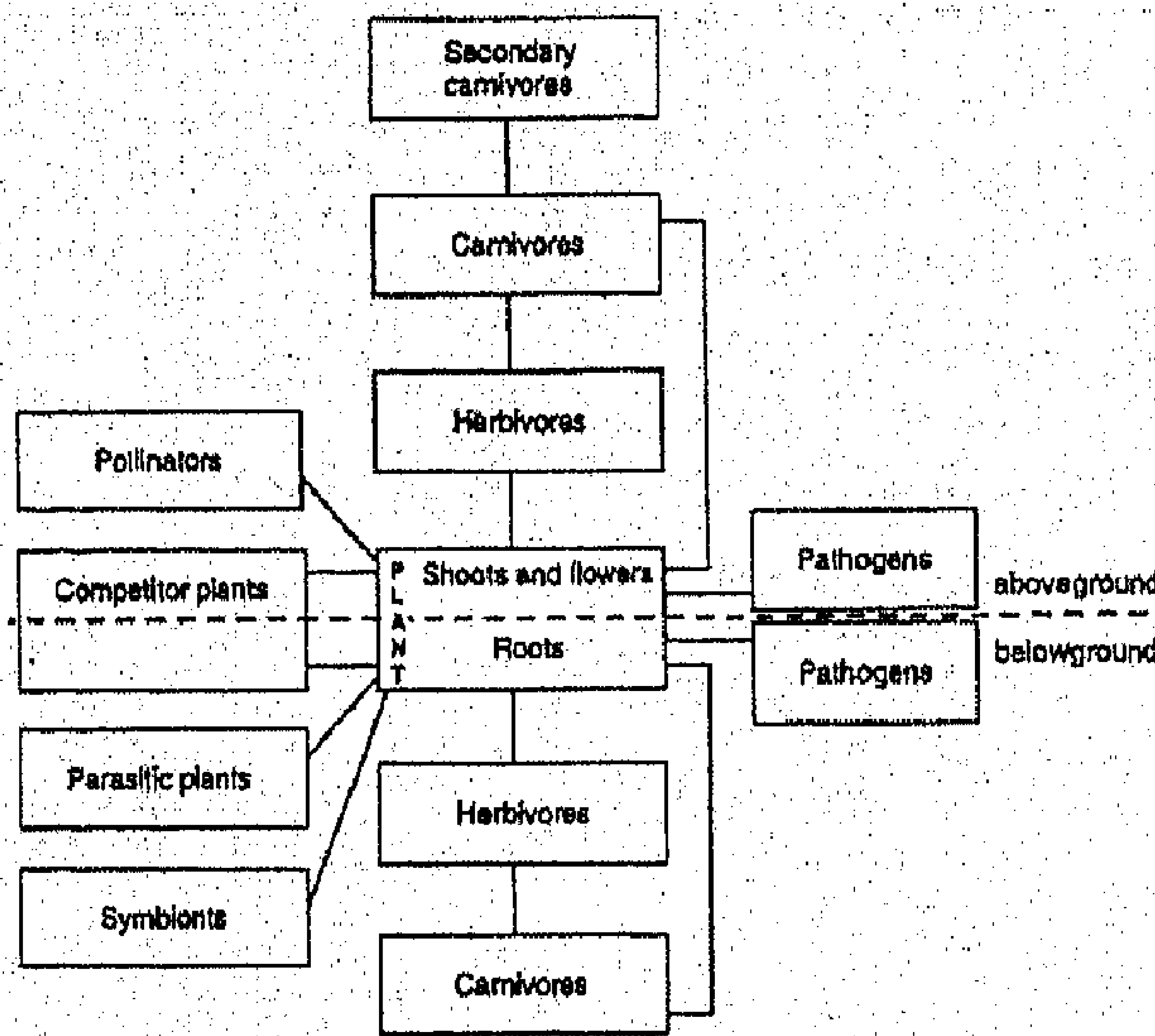
جزء من التنظيم العالى لسلاسل تأشير الدفاع أو التعبير الجينى يتمثل فى قابلية النبات للتنشيط السريع لاستجابات الدفاع الخلوية وهذه يمكن تحفيزها وهى العملية التى يطلق عليها التحضير . عندما يتعرض النبات لمنشط التحضير فإنه لا يستجيب على الفور لإنتاج مركبات الدفاع ولكنه يدخل فى حالة حساسية بما يسمح له بالاستجابة أسرع أو أقوى للتحديات المتتابعة فى المستقبل . التحضير عرف فى الأصل مع الممرضات النباتية وبكتريا ريزوسفير النبات وتداخلاتها ويبدو أنها تمثل ميزة بالنظر لتكاليف التمثيل المرتبطة بالدفاع .

التحضير يمكن أن يحدث استجابة للمنشطات المختلفة مثل المواد المتطايرة النباتية والإصابة بمسببات الأمراض أو آكلات النباتات . التحضير للدفاعات غير المباشرة تأكدت مع انبعاث المواد المتطايرة المحفز كما هو الحال مع إفراز الرحيق EFN . التعرض للمواد المتطايرة من الأوراق الخضراء من النباتات التالفة المجاورة تؤدى إلى إنتاج مستويات عالية من حمض الجسمونيك JA والانبعاث العالى للمواد المتطايرة بمجرد حدوث التلف الميكانيكى أو هجوم آكلات النباتات بالمقارنة بالنباتات غير المعرضة . كذلك فإن استخدام المركبات الخارجية المنفردة مثل -3- (Z) , (Z) -3- hexenal hexane -1-01 وكذلك (Z) -3- hexenyl acetate يمكن أن يحفز النباتات ناحية الاستجابات لهجوم آكلات النباتات . حديثاً أظهرت تجربة حقلية التحضير بواسطة إفراز الرحيق EFN. لقد تم تعريض نباتات فول الليما لمخلوط من المواد المتطايرة الصناعية تحاكى الانبعاثات الطبيعية للمواد المتطايرة من نباتات فول الليما المحفزة بآكلات النباتات . بمجرد حدوث الجروح تقوم هذه النباتات بإفراز رحيق أكثر بالمقارنة بانبعاثات المقارنة غير المعرضة مما يوضح تأثير التحضير من جراء التعريض للمواد المتطايرة .

٣- استجابات أفراد الجماعة للدفاع غير المباشر المحفز فى النباتات :

كيميائيات المعلوماتية المحفزة بمجرد أن تنبعث أو تطلق من النباتات يمكن أن تستغل بواسطة أى فرد من الجماعة التى ينتمى إليها بما فيها النباتات المجاورة وآكلات النباتات

وأشباه الطفيليات والملقحات وغيرها من أفراد الجماعة سـواء تحـت أو فـوق الأرض (الشكل ٢-٥) . كيميائيات المعلوماتية Infochemicals يمكن أن تصل كوسيلة دفـاع مباشرة عن طريق طرد آكلات النباتات . كمثال فإن حشرات أبي دقيقات تتجنب وضـع البيض على النباتات التى تحفز إما بواسطة وجود البـيض أو التلـف بـسبب التغذيـة . المستويات العالية من وسائل الدفاع المباشر قد تطرد آكلات الأوراق من التغذية أو وضع البيض على النبات وقد تخفض من تطور اليرقات وجعلها أكثر عرضة للإصابة بالأعداء الطبيعية . هذا ولو أن ميكانيكيات الدفاع المباشر وغير المباشرة يمكن أن تعمل تضادياً . توكسينات النبات التى يتم تناولها بواسطة آكلات النباتات قد تكون معزولة كي تؤثر على تطور آكلات اللحوم أو تؤثر سلبياً على لياقة آكل اللحوم بسبب حجم العائل أو الجـودة . المجاميع الطبيعية Senecio jacobaea تحقق تباين وراثى فـى تركيـز بيروليزيـدين الكالويد (PA) . النباتات المصابة بالمنّ والنمل والتى تأوى المنّ فيها مستويات منخفضة من PA عن النباتات غير المصابة بالمنّ وما يصاحبه من نمل . النمل يـستطيع حمايـة النبات من حدوث التساقط الكلى ومن ثم يفيد النباتات فى السنوات التى يكون فيها إجهـاد عالى من آكلات الأوراق الخاصة Tyria jacobaeae بينما فى السنوات التى فيها وفـرة قليلة من هذه الحشرة فإن النباتات هذه قد تعانى من كثير من تكاليف للياقة من الإصـابة بحشرات المنّ عن النباتات التى فيها مستويات عالية من PA . تـأثير التحـضير علـى أعضاء الجماعة الأخرى عما هو الحال مع آكلات النباتات وتعقيد تداخلاتها سوف تناقش فيما يلى :



شكل (٢-٥) : رسم توضيحى لتعقيد التداخلات تحت وفوق الأرض فى جماعة متعددة المستويات الغذائية (الممرضات لآكلات النباتات ، آكلات اللحوم والملقحات لم تتضمن فى هذه التداخلات)

٣-١- استجابة أفراد الجماعة للمستوى الثالث من التغذية

النباتات يمكن أن تستفيد من جراء اللياقة التى تكتسبها من آكلات اللحوم التى تهاجم آكلات النباتات . فى هذا الوضع فإن آكلات النباتات تكون تحت ضغط غير واضح وتكون صغيرة بالمقارنة بالنباتات التى تتغذى عليها . بالتبعية فإن مفصليات الأرجل آكلات اللحوم تعتمد فى الغالب على المشعرة من النباتات لوضع ضحاياها من آكلات النباتات . ومع هذا فإن المنشط المشتق من العائل يكون أكثر عقلانية وموضوعية لتحديد موقع العائل فإن استخداماتها تكون محدودة بسبب صغر الكمية التى يراد الكشف عنها خاصة مع المسافات البعيدة . لذلك فإن مفصليات الأرجل آكلات اللحوم فى العادة تكون أكثر قوة فى الانجذاب بواسطة المواد المتطايرة الصادرة من النباتات بالمقارنة بالمواد المتطايرة المشتقة من ضحاياها من آكلات النباتات . الانجذاب بواسطة المواد المتطايرة من نباتات العائل المصابة وبواسطة الرحيق EFN لوحظت مع بيض ويرقات أشباه الطفيليات والمفترسات . المستويات المحفزة من الرحيق يزيد كذلك من وفرة النمل والدبابير والحشرات الكاملة ومن ثم يقلل من كمية التلف .

المسار الأكبر لنقل الإشارات التى تتضمن فى انجذاب الأعداء الطبيعية يبدو أنه مسار حمض الجسمونيك JA . اشتراك حمض الجسمونيك يحفز انجذاب أفراد المستوى الثالث من التغذية يحدث عن طريق كلا مناورة الحمض JA على مستوى الطرز المورفولوجى للنبات والطرز الوراثى للنبات . النباتات المعاملة بحمض الجسمونيك تجذب الأعداء الطبيعية لمفصليات الأرجل آكلات النباتات ومن ثم تزيد من معدلات التطفل فى الحقل . بالإضافة إلى ذلك فإن النباتات التى تعانى من نقص الجسمونات أقل جذباً للأعداء الطبيعية عن نباتات المقارنة عندما تهاجم بواسطة آكلات النباتات .

٣-٢- استجابات أفراد المستويات الغذائية العالية

أعداء آكلات النباتات يمكن أن تصبح ضحية للأفراد من المستويات الغذائية الأعلى وكمثال أشباه فرط التطفل من رتبة غشائية الأجنحة يطلق عليها كذلك أشباه الطفيليات الثانوية . التغيرات المحفزة فى كيمياء النبات تؤثر ليس فقط على تطور وبقاء آكلات النباتات وأشباه الطفيليات له ولكن على أشباه الطفيليات الثانوية . أداء شبيه فرط التطفل Lysibia nana مع مدى عريض من العوائل أتضح أنه يتأثر سالبياً بواسطة المستويات العالية من توكسينات الدفاع فى النبات العائل . أشباه الطفيليات الثانوية فى الغالب تقارن مع أشباه الطفيليات الأولية حيث أن كلاهما يتقاسمان استراتيجيات تاريخ الحياة الشائع .

هذا ولو أنه مقارنة بأشباه الطفيليات الأولية لا يعرف إلا القليل عن استراتيجاتها فى البحث عن العائل وما إذا كانت أو لم تكن تستخدم المواد المتطايرة النباتية لوضع آكلات النباتات المتطفل عليها . الإشارات الصادرة من النباتات قد تكون ذات قيمة محدودة لأشباه فـرط التطفل لأسباب عديدة . الأول ولو أن المواد المتطايرة النباتية المحفزة بواسطة آكل العشب قد تكون إشارات مقبولة عقلانية لأشباه الطفيليات الأولية إلا أنها لا تضمن وجود العائـل المتطفل عليه لشبيه الطفيل الثانوى . السبب الثانى يتمثل فى أن أشباه الطفيليات الأولية فى الغالب تكون أكثر تخصصية عن أشباه الطفيليات الثانوية . بعد ذلك أظهـرت الدراسـات الحديثة أن أشباه الطفيليات الأولية فى الحقيقة تكون قادرة على التمييز والتفرقة بين المواد المتطايرة النباتية المحفزة بالإصابة بآكلات النبات والمنبعثة من النباتات التالفـة بواسـطة ديدان غير متطفل عليها أو متطفلة مما أدى إلى الاقتراح بأن الإشـارات الـصادرة مـن النباتات قد تكون ميسرة لأشباه الطفيليات الثانوية كذلك .

لقد أجريت دراسات عديدة عن سلوك أشباه الطفيليات الثانوية فى البحث عن العائـل وأسفرت عن نتائج متباينة . شبيه الطفيل الخـارجى المتخـصص Euneura augarus تعتمد على المواد النباتية المتطايرة للبحث طويل المدى . هذا ولو أن هذا الطفيل لا يميـز بين النباتات مع او بدون جثث العائل للبحث على المدى الطويل . نوعى أشباه الطفيليـات المفرطة Alloxysta victrix , pendrocaru carpenteri انجذبت إلى المواد المتطايرة المحفزة بآكلات النباتات (نباتات الشوفان المصابة بمنّ Sitibion erenae بينمـا فـى دراسة أخرى على نظام شبيه الطفيل الأولـى علـى العائـل " بطـاطس مـصابة M. euphorbia ") لم تنجذب . لقد وجد الباحث Buitenhuis وآخرون (٢٠٠٥) اشـتقاق فى سلوك السرح لأشباه الطفيليات الأولية والثانوية فى استخدام الإشارات الملائمـة عنـد البحث على النبات . سلوك البحث عن العائل لأشباه الطفيليات المفرطة تعتمد أكثر علـى الإشارات الملامسة وأقل على المواد المتطايرة من النباتات بالمقارنة بأشـباه الطفيليـات الأولية .

٣-٣- استجابات الملقحات Pollinators

التكاثر الجنسى للعديد من أنواع النباتات يعتمد علىٰ التلقيح بواسـطة نحـل العـسل والنحل الطنان والنحل الانفرادى وذباب السيرفيدى أو الفراشات . آكلات الأعـشاب فـى الأطوار المبكرة من نمو النبات تخفض من مساحة التمثيل الضوئى للنبات وهذا قد يـؤدى إلى الحصول على نباتات أصغر وفترة تزهير أقصر . هذا ممكن الحدوث بسبب ترسـيخ مصادر للدفاع عما هو ترسيخ مصادر للنمو والتكاثر . آكلات الأوراق قد تؤثر على إنتاج حبوب اللقاح والرحيق وجودة الرحيق ومورفولوجى الأزهار وقد تقلل من إنتاج البذور . كلا جودة وكمية الرحيق من المعايير التى تحدد عدد ونوع الملقحات التى تنجـذب علـى النباتات . بينما من المعروف أن الرحيق الخارجى يزداد بعد هجوم آكلات الأوراق إلا أنه

يظل غير معروف ما إذا كانت آكلات الأوراق تؤثر كذلك على إنتاج الرحيق . قليل من الدراسات تناولت تأثير آكلات النباتات على كيمياء الأزهار . آكلات الأوراق على نباتات الدخان زادت من تركيز الالكالويد فى الرحيق بينما أظهرت دراسات أخرى زيادة فى مركبات الدفاع مثل النيكوتين والجلوكوسينولات فى أنسجة الأزهار . من المثير للاهتمام ملاحظة أن مستويات نيكوتين نباتات الدخان فى التويج تكون منخفضة فى مرحلة الإظلام Scotophase عندما تنجذب الفراشات للقيام بعملية التلقيح .

مازالت المعلومات المتوفرة عن تأثير آكلات النباتات على التلقيح قليلة . لقد أشارت العديد من الدراسات إلى التأثير المباشر لآكلات الأوراق على التلقيح . آكلات الأوراق قد تؤثر على صفات التزهير وكمثال تخفض من عدد الأزهار وحجم الأزهار وطول النبات . هذا قد يعود ويؤثر مرات زيادة الأزهار بواسطة الملقحات . لقد وجد أحد البحاث أن النحل يفضل نباتات الفجل السليمة عن التالفة وهذا الاختلاف يرجع إلى خفض حجم وعدد الأزهار . هذا ولو أن ذباب السيرفيدى يفضل النباتات السليمة عن التالفة حتى لو كانت النباتات يتحكم فى حجم وعدد أزهارها مما يوضح الأساس الكيميائى لجذب ذباب السيرفيدى ولو أنه فى هذه الحالة فإن الملقح يقل انجذابه إلا أن آكلات النباتات يمكن أن تزيد من انجذاب الملقح . آكلات الجذور النباتية كمثال تزيد من زيارات الأزهار كما لوحظ فى نباتات الخردل ولو أن هذه الأمثلة تشير إلى تأثير آكلات النباتات على التلقيح إلا أن ميكانيكية حدوث ذلك مازالت غير مؤكدة . من الممكن أن ذلك يرجع إلى التأثير على نمو النبات وعدد الأزهار والمواد المتطايرة النباتية أو التغير فى كمية وجودة الرحيق وجميعها تحدد التغيرات فى انجذاب الملقح .

٣-٤- استجابات النباتات المجاورة

النباتات قد تكتسب لياقة من استجابتها للمواد المتطايرة المحفزة بواسطة آكلات النباتات من النباتات المجاورة التي هوجمت . هذه الإشارة دليل على حدوث ضرر أو تلف وشيك الحدوث وأن النبات المستقبل قد يستفيد من هذه المعلومة ويستعد للدفاع . الإشارات النباتية التي تحفز من هجوم آكلات النبات يمكن أن يستفاد منها بواسطة النباتات المجاورة من نفس النوع أو من أنواع مختلفة . الإشارات الشديدة قد تنشط دفاعات النبات على الفور بينما الإشارات الضعيفة قد تحضر النبات للهجوم . لقد ظهر ذلك بوضوح فى دراسة حقلية أشارت إلى أن المواد المتطايرة النباتية من نبات Sagebrush التالفة تستطيع أن تحفز لتحفيز مثبطات البروتينيز فى نباتات الدخان المجاورة . نباتات الدخان المحفزة تستقبل تلف أقل من هجوم آكلات الأوراق اللاحق بالمقارنة بالنباتات المقارنة غير المعرضة . ليست انبعاث المواد المتطايرة فقط ولكن إفراز الرحيق EFN كذلك يمكن أن تحضر بواسطة التعرض للمواد المتطايرة من النباتات التالفة . النباتات التى تعرضت للمواد المتطايرة من آكلات النباتات التى تصيب النباتات المرافقة الخاصة تنتج رحيق أكثر

EFN عندما تهاجم نفسها ولو أن هذا التأثير لوحظ فقط خلال المراحل المبكرة من هجوم آكلات النباتات .

٣-٥- التداخلات فوق وتحت الأرض

معظم الدراسات عن الدفاعات المحفزة ركزت على التداخلات فوق الأرض . هذا ولو أن التداخلات تحت الأرض يكون لها تأثيرات هامة مع العمليات التى تحدث فوق الأرض . كمثال فإن آكلات الجذور النباتية وذوات المنفعة المشتركة تحت الأرض مثل فطر الميكوريهيدزا تؤثر على التلقيح .

العمليات المشابهة لتلك التي سجلت فى الحدوث فوق الأرض سجلت كذلك فى الحدوث تحت الأرض . النباتات تستطيع تحوير أو انبعاث المواد المتطايرة استجابة لاكلات الجذور التى تجذب الأعداء الطبيعية لهذه الآكلات . لقد تمت الإشارة إلى هذه العلاقة بداية مع النباتات العوائل من العائلة الصنوبرية مثل Thuja occidentalis الذى عندما يتعرض ليرقات الخنافس يبعث كيميائيات جاذبة للنيماتودا التى تستطيع التطفل على اليرقات . لقد أوضح الباحث Rasmann وآخرون نفس الظاهرة مع نباتات الذرة وتم تعريف المادة الكيميائية التى تجذب النيماتودا الممرضة للحشرات Heteror habditis megidis وهو العدد الطبيعى للخنفساء المهاجمة . الإشارية من نبات لآخر تحدث تحت الأرض . النباتات تبعث إشارات تحت الأرض تستغل بواسطة النباتات المجاورة لجذب المفترسات أو بواسطة النباتات المتطفلة لتحفيز الإنبات .

بالإضافة إلى التداخلات تحت الأرض يكون من الأهمية الأخذ فى الاعتبار التداخلات بين المجتمعات فوق وتحت الأرض . نباتات القطن كمثال تزيد من إنتاج الرحيق بالفلورا فوق الأرض بمجرد هجوم الديدان السلكية التى تتغذى على الجذور . آكلات الجذور النباتية وكذلك فطر أربوسكيولد ميكروهيزال تستطيع انبعاث المواد المتطايرة فوق الأرض وما يستتبع ذلك من زيادة عدد الزيارات بواسطة أشباه الطفيليات لآكلات النباتات فوق الأرض . أداء الجماعة متعددة التغذية فوق الأرض المرتبطة بالنبات تختلف عن النباتات مع أو بدون آكل جذور النباتات . آكلات الجذور تغير من جودة النباتات وهذه بعد ذلك تؤثر سلباً على أداء آكل النبات فوق الأرض وهو شبيه الطفيل الأولى والثانوى . لقد وجد الباحث Bezemer ومعاونوه (٢٠٠٥) أن أداء المنّ انخفض بوجود النيماتودا أو الكائنات الدقيقة بينما أشباه طفيليات المنّ الأولية تأثرت إيجابياً بواسطة أفراد الجماعة تحت الأرض. أوضحت هذه الدراسات أن مجتمعات التربة تؤثر على التداخلات وأداء أنواع الكائنات فوق التربة من ذوات المستويات الغذائية المتعددة . لمعلوماتنا لا توجد دراسات تناولت إلقاء الضوء عن التأثيرات الممكنة لآكلات النباتات فوق الأرض .

٤ – الدفاع غير المباشر فى العالم المعقد والمتغير :

مخلوط المواد النباتية المتطايرة المحفزة يكون فى غاية التخصص . أشباه الطفيليات والمفترسات تستطيع التمييز بين المخاليط المحفزة من الأنواع النباتية المختلفة وأنواع آكلات النباتات (أو حتى أطوار وآكل النبات) وكذلك بين استجابات التغذية وتحفيز وضع البيض وكذلك بين التلف الموضعى والجهازى (جدول ٢-٣) . بينما معظم الدراسات تناولت فحص نظم بسيطة من الثلاثية التغذية التى تتكون من نبات واحد وآكل نبات واحد وواحد من أعدائه الطبيعية وفى الحقل فإن الكائن الحى يتداخل مع العديد من كثير من الأنواع . النباتات العوائل تصاب تكراريا بأكثر من آكل نبات واحد . بالنسبة لحركيات الجماعة يكون من الأهمية معرفة ما إذا كانت الكائنات الحية التى تستقر على النباتات التى تصور إشارات قادرة على التمييز بين الإشارات التى تشير إلى وجود عوائلها عما هو الحال مع الإشارات من غير العائل وغيرها من الروائح . لقد قام الباحث Shiojiri وآخرون (٢٠٠٢) بمقارنة سلوك البحث عن العائل لنوعين من الدبابير أشباه الطفيليات على النباتات العوائل المصابة بواحد أو اثنين من آكلات النباتات . واحد من أشباه الطفيليات Cotesia plutellac كان أكثر قوة فى الجذب للنباتات المصابة وحدها مع عائلها بينما شبيه الطفيل الآخر Cotesia glorrerato يفضل النباتات مع كلا آكلات النباتات . بالتبعية فإن النبات المصاب بكلا آكلات النباتات يقدم مكان خالى من الأعداء لعائل C.plutellae (مثل Plutella xylotella) ومكان للعدو بكثافة للعائل لـ C.glomerata (وهو أبى دقيق الكرنب Pieris rapae) تفضيل وضع البيض لآكلات النباتات الكاملة ترتبط بهذا النظام بينما P.xyllotella تفضل النباتات مع كلا آكلات النباتات ولم يظهر أبى دقيق الكرنب أى تفضيل . كمثال فإن P.xylostalla تستفيد من التأثير الموجب غير المباشر (المقاومة المرافقة Association resistance) أو المقاومة المساعدة من خلال وجود أبى دقيق للكرنب . استجابات الدفاع لآكلات النباتات قد تتداخل مع تداخلات أخرى فى الجماعة مثل التلقيح . مع نباتات الدخان يوجد تعارض بين طرد آكلات النباتات وجذب الملقحات . كما ذكر قبلا فإن هذه النباتات تخفض مستوى التوكسينات وتزيد من انبعاث جاذب الملقح بواسطة أزهارها فى المساء . عن هذا الطريق فإن الدخان يستطيع الدفاع عن نفسه ضد آكلات النباتات خلال النهار ويجذب الملقح فى الليل.

جدول (٢-٣) : انبعاث المواد المتطايرة النباتية تكون عالية التخصص فى الاستجابة لمختلف المواد المحفزة أو المنشطة

Plant volatiles differ depending on:	System	Result	References
Plant species	Tobacco, cotton	All three plant species emit	(De Moraes

النوع النباتي or	and maize – *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* – parasitic wasp *Caradiochiles nigriceps*	different volatile blends in response to their attackers.	et al. 1998)
Plant cultivar الصنف النباتي or	Maize cultivars and wild relatives	The plant cultivars emitted qualitatively and quantitatively different volatile blends.	(Gouinguene et al. 2001)
Plant with or without host النبات مع أو بدون العائل	Maize *Zea mays* – beet armyworm *Spodoptera exigua* – *Cotesia marginiventris*	Undamaged and herbivore-damaged plants differ in volatile emission and *C. marginiventris* can discriminate between the odor blends.	(Turlings et al. 1990)
+/–	Pine – ahids – *Cinara pinea* – hyperparasitoid *Euneura augarus*	Hyperparasitoid cannot discriminate at long range between plants with and without aphid mummies.	(Volkl and Sullivan 2000)
Herbivore species نوع آكل العشب	Tobacco, cotton and maize – *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* – parasitic wasp *Caardiochiles nigriceps*	Plants produce herbivore-specific chemical signals and *C. nigriceps* females prefer host-infested over non-host-infested plants.	(De Moraes et al. 1998)
or	Bean plants *Vicia faba* – host: pea aphid *Acyrthosiphon pisum*, non-host black bean aphid *Aphis fabae* – parasitoid	Host and non-host aphid induce different volatiles, *A. ervi* can discriminate between host-infested and non-host-infested plants.	(Du et al. 1996;1998)

	Aphidius ervi		

تابع جدول (٢-٣) : انبعاث المواد المتطايرة النباتية تكون عالية التخصص فى الاستجابة لمختلف المواد المحفزة أو المنشطة

Plant volatiles differ depending on:	**System**	**Result**	**References**
Herbivore instar طور آكل العشب or	Maize *Zea mays* – common armyworm *Pseudaletia separata* – *Cotesia kariyai*	*C. kariyai* discriminates between undamaged plants and plants damaged by 1st to 4th instar larvae, but not by later instar larvae. And early and late instar larvae induce qualitatively and quantitatively different volatile blends	(Takabayashi et al. 1995)
Local or systemic induction التحفيز الجهازي الموضعي	Lima bean *phaseolus lunatus* – spider mites *Tetranychus urticae* – predatory mites *Phytoseiulus persimilis*	Undamaged leaves of a spider mite-infested plant are induced to emit volatiles that attract the predators	(Dicke et al. 1990a)
Time since induction الوقت حتى التحفيز	Brussels sprouts *Brassica oleracea* – large cabbage white *Pieris barassicae* – *Cotesia glomerata*	Brussels sprouts plant becomes attractive to *C. glomerata* 30 minutes after caterpillar infestation, reaches a maximum after 3 hours and then remains constant for at least 14 hours	(Scascighini et al. 2005)
Time of day الوقت من النهار	Tobacco *Nicotiana tabacum* – moth *Heliothis virescens*	Difference in volatile emission during day and night, influences night-active herbivores	(De moraes et al. 2001)

Infestation rate معدل الإصابة	Field elm *Ulmus minor* – elm leaf beetle *Xanthogaleruca lutteola*	Twigs with a low infestation rate are more attractive to beetles than uninfested or heavily infested twigs	(Meiners et al. 2005)

بينما تكون بعض أفراد الجماعة قادرة على التمييز بين مخاليط المركبات المتطايرة المختلفة فإن البعض الآخر لا يستطيع ذلك أو يستطيع ذلك بعد التعلم المرافق فقط . العديد من أنواع مفصليات الأرجل مثل الحشرات التالية Phytoeiulu persimilis , Coteia marginiventris and C. glomerata تستطيع أن تتعلم مرافق بعض الروائح مع بعض المكاسب . التعلم للروائح المرافقة في وجود العائل أو الضحية قد يكون الطريق للمواكبة مع التغير في مخاليط المواد المتطايرة . تعلم مرافقات جديدة قد يأخذ بعض الوقت ويحتاج خبرات عديدة . في نفس الوقت فإن العائل أو الضحية قد تستفيد من عدم رؤيتها Invisibility للعدو الطبيعي بينما أشباه الطفيليات والمفترسات تضيع وقتها في البحث عن النباتات بدون عائلها أو ضحيتها . النظام المؤقت في التعليم للاستجابة لبعض مخاليط المواد المتطايرة وفقد الاستجابة لهذا التعلم سوف تؤثر على خطورة آكلات النباتات لتسليم الضحية لأعدائها الطبيعية . المأوى المؤقتة قد تثبت النظم المفترس – الضحية أو شبيه الطفيل – العائل ومن ثم تؤثر على حركية مجتمعات مفصليات الأرجل على النباتات (Vos et al., 2001 وكذلك Takabayashe et al., 2006) . للحصول على رؤية واضحة عن هذه التداخلات وثبات النظم البيئية فإن الدراسات الحقلية التي يتم فيها تغيير واحد من المكونات تقدم وسيلة هامة لبحث التأثير على الجماعة .

٥- مناورة الدفاع النباتي غير المباشر Manipulation

لبحث تأثير الدفاعات غير المباشرة ومكوناتها يكون من المفيد إتباع اقتراب المناورة. المناورة بالاستجابات الدفاعية تقدم معلوماتية عن كلا ميكانيكيات الدفاع النباتي والتتابعات الايكولوجية للتغيرات في فينولوجية النبات . فيما يلي نتناول بالشرح بعض من اقترابات المناورة .

٥-١- الشذى بالمركبات الفردية

يمكن عمل تغيير بسيط في فينولوجية النبات عن طريق إضافة مركب منفرد إلى النبات السليم غير التالف . هذه الطريقة تسمح باختيار أهمية المركبات الفردية في الجذب وكمثال المفترسات وأشباه الطفيليات للنبات ضد الروائح الطبيعية (Dicke et al., 2006) حتى مفصليات الأرجل آكلات اللحوم في العادة تنجذب لمخاليط معقدة من الروائح ولقد سجل زيادة انجذاب آكلات اللحوم بسبب إضافة مركبات فردية بهذه الطريقة . كذلك فإنه

فى الدراسة الحقلية أدت إضافة مركب لينالول إلى نباتات N.attenuata إلى زيادة افتراس بيض آكلات الأوراق واليرقات ونقص وضع البيض بواسطة آكل النبات .

٥-٢- التجزئة والترشيح

المناورة بالطرز الفينولوجى لمخاليط المواد المتطايرة يمكن تحقيقها باستخدام المرشحات لجمع المركبات ذات الخصائص الكيميائية الخاصة الاختيارية أو بواسطة التجزئة والقيام باختبار الأجزاء المختلفة من المخلوط لمعرفة نشاطه البيولوجى . بالمقارنة باختبار المركبات المنفردة فإن هذه الطرق تملك ميزة الحفاظ على نسب المواد المتطايرة المختلفة كما هى موجودة فى مخلوط المواد المتطايرة المحفزة بآكل العشب . يمكن استخدام المرشحات لإزالة واحد أو أكثر من المركبات والتى يشك فى أن لها نشاط بيولوجى من بين مخلوط المواد المتطايرة جميعاً . حينئذ يكون من الممكن اختبار أهميتها فى سلوك الحيوان فى تجارب قياس الشم . بهذه الطريقة أتضح أن الإزالة الاختيارية لأكثر المواد النباتية تطايراً باستخدام مرشحات السليكا تنقص من انجذابية مخلوط المواد المتطايرة للدبور شبيه الطفيل C.marginiventris وليس لشبيه الطفيل الآخر Microplitis rufiventris . هذه الدراسة أوضحت كيف أن الترشيح يمكن أن يستخدم كوسيلة لإيجاد المواد المتطايرة وثيقة الصلة إيكولوجيا للأنواع المختلفة على جميع المستويات الغذائية باستخدام مختلف مواد الأدمصاص لغرض التجزئة فإن مخلوط المركبات الدفاعية يمكن اصطياده على مادة الادمصاص ومن ثم يمكن استرجاعه بواسطة التحرير الكيميائى أو الحرارى . التجزىء واختبار الأجزاء المختلفة لمعرفة نشاطها البيولوجى يقدم وسيلة مفيدة لتعريف المركبات المشتركة فى الدفاع غير المباشر .

٥-٣- التحور الوراثى

يوجد طريق آخر للمناورة بالدفاعات المحفزة فى النباتات يتمثل فى التحور الوراثى لمسارات نقل الإشارات أو استنساخ التأشير أو مسارات التخليق الحيوى . النباتات المحورة بعناية التى تختلف فى جين منفرد يمكن مقارنتها بالنباتات البرية للحصول على معرفة أكثر عن ميكانيكيات الدفاع المحفز والتأثيرات الايكولوجية الناتجة . هذا ولو أن النباتات المتطابقة يمكن أن تحفز بواسطة آكل العشب والاختلافات بين النوع البرى والطفرة يمكن أن تدرس على مستويات التعبير الجينى وإنتاج المواد المتطايرة واستجابة النبات مع الجماعة المرتبطة به . هذا الاقتراب محدود بسبب تيسر النباتات المحورة . مع بعض الأنواع مثل A.thaliana توجد أصناف عريضة من النباتات المطفرة والمهندسة وراثياً متاحة . التحور الوراثى وسيلة ممتازة لدراسة الارتباط الايكولوجى للمركبات الفردية التى يصعب الحصول عليها بالتخليق . كمثال نباتات أرابيدوبسيس السليمة غير التالفة المتحولة مع إنزيم تربين سينسيز من الفراولة تنتج التربينويدز ٨,٤ - دايمثيل - ٣,١ (E) V6 - نوناترايين و (E) نيروليدول والتى تؤدى إلى جذب الأكاروسات

المفترسة . هذا ولو أن نباتات ارابيدوبسيس له محدودياته حيث يكون له فينولوجية مبكرة جداً وبالتبعية تداخل محدود مع الكائنات المرتبطة به كنموذج لدراسة ايكولوجى الجماعة .

نباتات N.atranuata المهندسة وراثياً والمحورة فى مسار النسخ الإشـــارى أوكتـــا ديكانويد استقبلت آكلات نباتات أكثر وكثير من أنواع آكلات النباتات عما هو الحال مـــع نباتات المقارنة من النوع البرى . على نفس المنوال فإن طفرة def -1 فى الطماطم تعانى من نقص تراكم حمض الجسمونيك خلال التطفير فى مسار حمـــض الجـــسمونيك JA . نتيجة لذلك فإن النباتات تنتج مخلوط غير كامل من المـــواد المتطـــايرة اســـتجابة للتلـــف بواسطة آكلات العشب والأعداء الطبيعية لآكلات العشب لا تستطيع التمييز بـــن مخـــاليط المواد المتطايرة من النباتات المحفزة وغير المحفزة . هذا ولو أنه مع العديد مـــن الـــنظم الطفرية الايكولوجية أو النباتات المحورة وراثياً غير ميسرة فى الوقت الحالى .

٥-٤- المحفزات والمثبطات الكيميائية

مسارات التحول الإشارى ومسارات التخليق الحيوى يمكن أن يناور بها خلال استخدام محفزات أو مثبطات خاصة . عن طريق التحفيز الصناعى أو تثبيط خطوات مختلفة من مسارات التأشير يصبح فى الإمكان دراسة التداخلات الايكولوجية عند المستويات الغذائية المختلفة أو فى المجتمع أو الجماعة كلها . مخلوط المواد المتطايرة المنبعثة من النباتات يمكن المناورة بها بواسطة التدخل مع مسارات نسخ أو نقل الإشارة كما أن أهمية كل خطوة يمكن دراستها بواسطة التنشيط أو الإيقاف الخاص للإنزيمات كل فى مساره . عندما تقدم هذه المخاليط المتغيرة إلى (أفراد) مجتمع الحشرة فإنها تقدم رؤية عن الارتباط الايكولوجي الوثيق لهذه المسارات .

المحفزات التى حظيت بأكثر دراسات واختبارات حتى الآن هى الهورمون النباتى حمض الجسمونيك والميثيل استر الخاص به وكذلك ميثيل جسمونات (Me JA) . أتضح أن هذه المحفزات تلعب دوراً هاماً فى تحفيز الدفاع فى العديد من الأنواع النباتية ضد مدى واسع من آكلات النباتات . حمض الجسمونيك يحفز انبعاث مخاليط المواد المتطايرة كما يحدث مع التحفيز بواسطة التلف من هجوم آكلات النباتات وبينما تتأثر آكلات النباتات سلبياً بشكل نسبى إلا أن مفصليات الأرجل من آكلات اللحوم تنجذب للنباتات التى تم تحفيزها بواسطة حامض الجسمونيك والمثيل جسمونات . مع العديد من المحفزات الأخرى والهورمونات النباتية مثل مثيل ساليسيلات وحمض لينولينيك و OPDA والبيتا – جلوكوسيديز ، سيللولايسين ، الاميثسين أظهرت دراسات مشابهة تأثيراتها على أفراد المجتمع . من المميزات لاستخدام المحفزات أو المنبهات إمكانية تطبيق جرعة معينة على أجزاء نباتية معينة بينما من المستحيل عملياً السيطرة على كمية الضرر الذى يحدث بواسطة الحشرات أو أية وسائل حيوية أخرى . هذا ولو أنه من غير السهولة ربط الجرعة التى تستخدم خارجياً مع التركيزات بين الخلوية وتأثيراتها .

هناك بعض المثبطات الخاصة ولو أنها لا تستخدم كثيراً كمحفزات أو منبهات إلا أنها مناسبة لمعرفة أهمية الخطوات المختلفة فى مسارات نسخ أو نقل الإشارات كذلك . هذا ولو أن تراكم المواد الوسيطة فى المسار قبل خطوة التثبيط مباشرة يسبب تأثيرات جانبية فسيولوجية . استخدام المثبطات أظهر أهمية الخطوات المبكرة فى مسار أوكتاديكانويد لانبعاث المواد المتطايرة فى فول الليما (جدول ٢-٣) . الفينيدون كمثال يثبط نشاط ليبوكسى جينيز مما يؤدى إلى إنتاج غير كامل لمخاليط المواد المتطايرة وخفض إفراز الرحيق EFN مما يوضح أهمية هذه الخطوة المبكرة فى مسار أوكتاديكانويد لاستجابات الدفاعات غير المباشرة .

٦- من المعمل للحقل From Lab to the Field

للحصول على رؤية عن ايكولوجى الدفاعات المحفزة تصبح الدراسات الحقلية التى تشمل إدخال تعقيدات النظم البيئية الطبيعية لا مفر منها . المناورة خلال إحدى الطرق التى وصفت أعلاه قد تسهل البحث عن تأثيرات الدفاع المحفز غير المباشر على التداخلات بين أفراد المجتمع وثبات النظام .

معظم الدراسات التى تناولت الدفاع المحفز فى النباتات عبارة عن دراسات معملية تناولت نظم بسيطة من نوع نباتى واحد وآكل نبات واحد وأعدائها الطبيعية . هذا يقدم رؤية تفصيلية عن تأثيرات الدفاعات المحفزة على التداخلات الفردية . خلال الدراسات فى الصوب الزراعية والنصف حقلية مع خطوات أكثر تعقيداً وكمثال عن طريق إدخال الروائح المعروفة تحت ظروف متحكم فيها مع رؤية أكثر تكتسب فى المواقف الحقلية . ولو أنه ولكى تستخدم المعلومات المتحصل عليها من هذه الدراسات فإن الأهمية النسبية لهذه المعلومات سوف تقيم فى الحقل . كذلك فإن المكافحة الحيوية فى الحقول الزراعية قد تستفيد من هذه المعلومات وتتفهم التداخلات متعددة المستويات الغذائية فى الحقل .

٦-١- النظم البيئية الطبيعية Natural Ecosystems

لدراسة ايكولوجية الاستجابات النباتية المحفزة بآكلات النبات يكون من الضرورى أخذ النظم البيئية الطبيعية فى الاعتبار . كمثال فإن الاستجابات المحفزة بواسطة آكلات العشب فى الفجل البرى تزيد من لياقة النباتات فى البيئات الطبيعية . آكلات النباتات تزيد من كثافة الأشواك وبالتبعية تقلل من تفضيل وأداء العديد من آكلات النباتات . فعالية وكفاءة الدفاعات المحفزة كانت واضحة من الدراسات الحقلية على N.attenuata حيث حدث خفض فى آكلات العشب بأكثر من ٩٠% عن طريق إضافة مركبات الدفاع . فى دراسة لاحقة أوضح Kossler وآخرون (٢٠٠٦) أن المواد المتطايرة من نباتات المريحية تستطيع تحفيز الاستجابات فى ن – أتينيواتا وتقلل من التلف بواسطة آكلات العشب للنباتات المعرضة . هذا ولو أنه بالرغم من استخدام المجاميع الطبيعية من ن . أتينيواتا فإن الصلة الوثيقة لهذه الدراسة مازالت محل تساؤلات بسبب أن نباتات المريحية التى استخدمت للتحضير تحدث فى مراحل متتابعة مختلفة عن ن . أتينيواتا . بالإضافة إلى ذلك فإن التأثير اكتشف على المدى القصير فقط عندما نمت النباتات فى نطاق ١٥ سم من كل منها.

فى مجاميع حشيشة اللبن التى تحدث طبيعياً وجد أن الإصابة بآكلات العشب فى بداية الموسم تؤثر على آكلات العشب خلال الموسم ومن ثم تؤثر على تركيب المجتمع أو الجماعة . فى المجتمع الطبيعى قام الباحث Agrawal (٢٠٠٤) بدراسة التداخلات المعقدة بين حشيشة اللبن والنجيل المنافس فى وجود أو غياب آكلات الجذور أو الأوراق . لقد

استنتج الباحث أن الاختلافات الوراثية والتنافس والإصابة بآكلات العشب تؤدى إلى تداخلات معقدة تسفر عن انتشار نشوء مرافق بين حشيشة اللبن وآكلات العشب . لتحسين الفهم عن نشوء الدفاعات المحفزة ومقاومة آكلات العشب تحتاج لدراسات حقلية أكثر .

استخدام المحفزات أو المنبهات في الحقل يقدم معلوماتية عن المسارات الايكولوجية وثيقة الصلة وبعض الخطوات الجارية . كمثال فإن استخدام حمض الجسمونيك على نباتات الطماطم فى الحقل تزيد من تطفل آكلات العشب ومن ثم تظهر اشتراك التغيرات المحفزة بحمض الجسمونيك فى انجذاب آكلات اللحوم . استخدام ميثيل جسمونات على نباتات الدخان أوضحت تكاليف الاستجابات المحفزة بالجسمونات . فى البيئات مع الإجهاد من آكلات العشب تكون النباتات المحفزة تعانى أقل من هجوم آكلات العشب وتنتج بذور أكثر حيوية عن النباتات غير المحفزة . هذا ولو أن النباتات غير التالفة تنتج بذور أكثر عندما لا تحفز مقارنة بالنباتات التى تم تحفيزها بالجسمونات .

٦-٢- النظم الزراعية Agricultural systems

الدفاعات النباتية المحفزة تساعد فى مكافحة الآفات فى النظم الزراعية . انجذاب الأعداء الطبيعية لآكلات العشب للمحاصيل تساعد فى مكافحة الآفات فى الزراعة سواء في الحقول المكشوفة أو الصوب . لذلك فإن فهم الميكانيكيات المشتركة فى الدفاعات النباتية والتتابعات فى المجتمع المرتبط بالنبات تساعد فى وقاية المحصول . المناورة قد تزيد من كفاءة الدفاعات النباتية عن طريق جذب الأعداء الطبيعية قبل أن تحدث تلف أو ضرر محسوس بواسطة آكلات العشب عن طريق منع التبويض بواسطة آكلات العشب . يمكن تحقيق ذلك عن طريق تحفيز النبات بواسطة الهورمونات النباتية مثل سيس – جسمون أو حمض الجسمونيك . هناك إمكانية أخرى تتمثل فى استخدام المحاصيل المحورة وراثياً التى تنتج مخاليط من المواد المتطايرة التى تكون أكثر جذباً للمفترسات عن الطرز الجينية المستخدمة فى الوقت الراهن . لقد تطورت هذه التكنولوجيا بالفعل بالرغم من تتابعات المجتمع فوق وتحت الأرض فإن التأشير على التداخلات بين أفراد المجتمعات المختلفة مازالت فى حاجة للفهم والتقريز .

٧- المنظورية Perspectives

تأثيرات التغيرات الفينولوجية المرتبطة بالدفاع المحفز فى النباتات على ديناميكيات المجتمع يصعب التنبؤ بها بسبب اشتراك العديد من النواحى والتباينات الكبيرة فى استجابات النباتات . بينما تم دراسة العديد من التداخلات ثنائية وثلاثية المستويات الغذائية وتم التسليم بأن النباتات فى الطبيعة فى العادة تكون تحت هجوم مدى عريض من الكائنات الحية فى نفس الوقت . كيف تؤثر هذه على دفاعات النباتات مازالت فى مرحلة البداية أوضحت النتائج الأولية أن التأثيرات قد تزداد أو تنقص مع شدة الدفاع .

ولو أن معظم الدراسات ركزت على العمليات فوق سطح الأرض فإن تأثير التغيرات فى الطرز الفينولوجية النباتية غير محدودة على المجتمع فوق الأرض . التداخلات فوق سطح الأرض تغير من إفرازات الجذور تحت الأرض ومن ثم تؤثر على مجتمع التربة والتلف تحت الأرض يؤثر على الدفاع غير المباشر فوق الأرض . العكس ولو أن تأثير التداخلات فوق الأرض على الدفاع غير المباشر تحت الأرض مازال لم يدرس . إدخال هذه التداخلات فى الدراسات المستقبلية يحفز بشكل كبير على رؤيتنا لتأثيرات الدفاعات غير المباشرة المحفزة على وظائف المجتمعات المعقدة . بالإضافة إلى التداخلات بين النبات والممرض النباتي والتداخلات بين النبات وآكل النبات فإن النباتات قد تكون تحت هجوم النباتات المتطفلة كذلك أو تتداخل مع الكائنات تكافلية المعيشة فوق سطح الأرض مثل ميكوريهيزا أو البكتريا تكافلية المعيشة . بالإضافة إلى ذلك فإن الكائنات داخلية التغذية فوق سطح الأرض تؤثر على الطرز الفينولوجى للدفاع وبالتبعية على التداخلات مع أفراد الجماعة كذلك . إدخال هذه التداخلات فى دراسات الدفاع غير المباشر للنباتات فى اقتراب ايكولوجية الجماعة سوف يزيد من التعقيد ولذلك فإن عمل ذلك يكون ضرورى للحصول على فهم واعى عن تأثيرات الدفاع النباتى غير المباشر على إيكولوجية النبات .

من المجالات البحثية الأخرى التى لم تلقى الاهتمام تلك التى تتمثل فى سلوك بحث الأفراد للمستويات الغذائية العالية مثل أشباه الطفيليات المفرطة . كيف تجد هذه أشباه الطفيليات عائلها وما إذا كانت تستخدم الإشارات النباتية أم لا مازالت غير معروفة . نفس الاستخدامات للملقحات نفذت ولو أن بعض التأثيرات لآكلات النباتات على التلقيح سجلت .

قائمة المراجع

References

Adler LS, Karban R, Strauss SY (2001) Direct and indirect effects of alkaloids on plant fitness via herbivory and pollination. Ecology 82:2032-2044

Baldwin IT (1990) Herbivory simulations in ecological research. Trends Ecol Evol 5:91-93

Cardoza YJ, Tumlinson JH (2006) Compatible and incompatible *Xanthomonas* infections differentially affect herbivore-induced volatile emission by pepper plants. J Chem Ecol 32:1755-1768

D'Alessandro M, Turlings TCJ (2006) Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods. Analyst 131:24-32

Engelberth J, Alborn HT, Schmelz EA, Tumlinson JH (2004) Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. Proc Natl Acad USA 101:1781-1785

Fatouros NE, Van Loon JJA, Hordijk KA, Smid HM, Dicke M (2005) Herbivore-induced plant volatiles medicate in-flight host discrimination by parasitoids. J Chem Ecol 31:2033-2047

Gange AC, Stagg PG, Ward LK (2002) Arbuscular mycorhizal fungi affect phytophagous insect specialism. Ecol Lett 5:11-15

Hamback PA (2001) Direct and indirect effects of herbivory: feeding by spittlebugs affects pollinator visitation rates and seedset of *Rudbeckia hirta*. 8:45-50

Janssen A (1999) Plants with spider-mite prey attract more predatory mites than clean plants under greenhouse conditions. Emtomol Exp Appl 90:191-198

Kahl J, Siemens DH, Aerts RJ, Gabler R, Kuhnemann F, Preston CA, Baldwin IT (2000) Herbivore-induced ethylene suppresses a direct defense but not a putative indirect defense against an adapted herbivore. Planta 210:336-342

Landolt PJ (1993) Effects of host plant leaf damage on cabbage looper moth attraction and oviposition. Entomol Exp Appl 67:79-85

Masters GJ, Jones TH, Rogers M (2001) Host-plant mediated effects of root herbivory on insect seed predators and their parasitoids. Oecologia 127:246-250

Narvaez-Vasquez J, Florin-Christensen J, Ryan CA (1999) Positional specificity of a phospholipase A activity induced by wounding, systemin, and oligosaccharide elicitors in tomato leaves. Plant Cell 11:2249-2260

O'Donnell PJ, Calvert C, Atzorn R, Wasternack C, Leyser HMO, Bowles DJ (1996) Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. Science 274:1914-1917

Pena-Cortes H, Albrecht T, Prat S, Weiler EW, Willmitzer L (1993) Aspirin prevents wound-induced gene-expression in tomato leaves by blocking jasmonic acid biosynthesis. Planta 191:123-128

Rasmann S, Kollner TG, Degenhardt J, Hiltpold I, Toepfer S, Kuhlmann U, Gershenzon J, Turlings TCJ (2005) Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. Nature 434:732-737

Sano H, Ohashi Y (1995) Involvement of small GTP-binding proteins in defense signal transduction pathways of higher plants. Proc Natl Acad Sci USA 92:4138-4144

Takabayashi J, Takahashi S, Dicke M, Posthumus MA (1995) Development stage of herbivore *Pseudaletia separate* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. J Chem Ecol 21:273-287

Van Dam NM, Hadwich K, Baldwin IT (2000) Induced responses in *Nicotiana attenuate* attect behavior and growth of the specialist herbivore *Manduca sexta*. Oecologia 122:371-379

Vrieling K, Smit W, Van der Meijden E (1991) Tritrophic interactions between aphids (*Aphis jacobaeae* Schrank), ant species, *Tyria jacobaeae* L., and *Senecio jacobaea* L. lead to maintenance of genetic variation in pyrrolizidine alkaloid concentration. Oecologia 86:177-182

Wackers FL, Bezemer TM (2003) Root herbivory induces an above-ground indirect defence. Ecol Lett 6:9-12

Walling LL (2000) The myriad plant responses to herbivores. J Plant Growth Regul 19:195-216

Zheng S-J, Van Dijk J, Bruinsma M, Dicke M (2007) Sensitivity and speed of induced defense of cabbage (*Brassica oleracea* L.): dynamics of BoLOX expression patterns during insect and pathogen attack. Mol Plant Micr Int 20:1332-1345

الباب الثالث

الدفاعات المحفزة فى النباتات ونموذج العلاقة بين التكلفة والفائدة

تكاليف الدفاع يظن أنها السبب فى التحفيز حيث تؤخذ التكاليف فى الاعتبار فقط عندما يكون الدفاع مطلوباً . ترتفع التكاليف عندما تخصص الموارد لتحقيق الدفاعات وما يستتبع ذلك من عدم تيسرها للنمو والتكاثر ومن الدمار التى يجب على الدفاعات أن تحبطه عن طريق التمثيل الأولى أو مقدرة النبات على الاستجابة باجهادات أخرى ومن التلف الذى يتسبب بواسطة آكلات النباتات التى تم شحذ قدرتها على مقاومة الدفاعات النباتية بواسطة التعبير الأساسى للدفاع . لذلك فإن نموذج العلاقة بين التكلفة – الفائدة لاقى القبول بشكل عريض والدليل الرياضى مهلهل . تجارب الإثارة Elicitation التى توضح تتابعات اللياقة لاستجابات الدفاع المنشط مع المثيرات قدمت فى البداية دليلاً لا يقبل الجدل ولكن فى هذه الدراسات فإن حل التكاليف للاستجابات مرافقة التنظيم غير ممكنة . الوراثة الكمية تربط التغيرات فى المقاومة مع اللياقة بين الطرز الوراثية أو الجينية المختلفة ولكن الصفات أو الخصائص المرتبطة بالدفاع يمكن أن ترتبط وراثياً مع صفات أخرى لا علاقة لها بالدفاع . دراسات الطفرية والتحول تقدم الدليل الأقوى للعلاقة بين التكلفة والفوائد تجارياً لأن التأثيرات الفظيعة للارتباط الوراثى تقل فى الخطوط مساوية الجين . بالإضافة للارتباط الوراثى فإن الدفاعات ترتبط بنواحى أخرى للتمثيل الأولى والثانوى ووظائف الدفاع يمكن أن تتغير بواسطة نواتج تمثيل أخرى . الارتباط المتنوعة فيما بين الاستجابات لآكلات النباتات مع تعقيدات العوامل الخارجية والداخلية التى تؤثر على لياقة النبات أدت إلى الاقتراح أن وظائف العلاقة بين التكلفة والفائدة تفحص جيداً عندما تغير اتجاهها إلى فراغ أو مكان متعدد الاتجاهات أو الأبعاد المقرونة بواسطة الظروف البيئية . التقدم المنهجى وفى الطرق تسمح بالربط مع شبكة التمثيل التى تشكل الطرز الفينولوجية وتجعلها واضحة وكذلك لاثبات زيف فرضية عدم التعامل تجارياً .

I.T. Baldwin

Max Planck Institute for Chemical Ecology , Department of Molecular Ecology , D-07745 Jena , Germany .

e-mail : Baldwin@ice.mpg.de

A. Schaller (ed.), Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١ – مقدمة

النباتات تستخدم الدفاعات الكيميائية لحماية أنفسهم من هجوم الأنواع العديدة من آكلات النباتات ومسببات الأمراض . فى العديد من النباتات فإن الدفاعات الكيميائية عبارة عن تحفيز منتشر بمعنى أن إنتاجها وتراكمها يزداد بشكل مثير بعد الهجهوم . نظم الإثارة المختلفة تسمح للنباتات لإثارة الدفاعات الأكثر كفاءة ضد مهاجمين خاصين (مثل الممرضات النباتية او آكلات الأوراق ذات النظم المختلفة للتغذية) . لكن وبسبب فترة الراحة أو الخمود Time log بين الهجوم الأول وتنشيط الدفاع فإن النباتات تبقى غير محمية لساعات أو حتى أيام حتى يحفز وتعمل وسائل الدفاع الخاصة . السؤال الآن : لماذا تظل النباتات تحت هذا الخطر ؟ الميزة الاختيارية لصفات الدفاع المحفزة تركيبياً والتى ينقصها التأخير الضار تفسر بشيوع من خلال التكاليف العالية للدفاعات . بالتبعية فإن فائدة اللياقة لهذه التكاليف الجارية عندما لا تكون المقاومة مطلوبة قد تتخطى وتزيد عن عيوب التأخير .

الدفاعات لها تكاليف فسيولوجية وايكولوجية ونشوئية . التكاليف الفسيولوجية تتضمن الحصة والسمية الذاتية Autotoxicity . تكاليف الحصة Allocation تحدث عندما تكون اللياقة مع الموارد المحدودة مشاركة بشكل كبير فى الدفاعات والتى قد لا يسهل تدويرها ومن ثم تكون غير متاحة للعمليات وثيقة الصلة باللياقة مثل التطور أو التكاثر . تكاليف السمية الذاتية قد تحدث بسبب أن بعض نواتج التمثيل الثانوية تكون سامة للنبات نفسه . تعبيراتها قد تفرض حمل تمثيل مؤثر . نواتج التمثيل السامة قد تكون مواد دفاعية فعالة ولكنها تمثل مسئولية قانونية للمنتج . لقد قامت النباتات بحل مشكلة دفن العوادم السامة المرتبطة بنشر الدفاع الكيميائى بواسطة تعزيز الدفاعات فى الأنسجة المستهدفة التى لا تحدث فى النباتات مثل الالكالويدز السامة عصبياً . التكاليف الايكولوجية تنتج من التأثيرات السالبة للياقة الخاصة بالدفاعات على التداخلات المعقدة التى لا تملكها مع بيئاتها . هذه التكاليف تتضمن المسئولية القانونية التى تنتج من إنتاج توكسينات التى تحجز بواسطة آكلات النباتات المتكيفة حيث تحميها من أعدائها الطبيعية . لكن التكاليف الايكولوجية قد تظهر على صورة تكاليف الفرصة Opportunity costs مما ينشط استجابة دفاع خاصة والتى تقوم بالتسوية فى تنشيط الدفاعات الأخرى وجها لوجه مع المهاجمين الأخريين أو استجابات التحمل التحفيزية قد تحجم من تكاليف النشوء بسبب أن الدفاعات المنتشرة قد تحقق ضغط انتخابى أقوى لآكلات النباتات كى تحدث مقاومة حقيقية . لقد خلص البحاث إلى أن الدفاعات المحفزة فى النباتات تزيد بدرجة كبيرة تعقيدات البيئات الكيميائية التى تعترض الأعداء الطبيعية على النباتات ومن ثم فإن خفض تكاليف النشوء هذه ذات أهمية كبيرة .

تكاليف التخصيص أو التوزيع المفترضة تلعب دوراً محورياً فى النظريـات التـى تحاول تفسير نظم توزيع ناتج التمثيل الدفاعى داخل وبين النباتـات ولكـن فرضـية أن الدفاعات تستلزم تكاليف توزيع كبيرة وهذه يصعب تقديرها رياضياً . النظريـة المثلـى للدفاع تنادى بأن توزيع نواتج التمثيل الخاصة بالدفاعات داخل النبات تعكس موائمة الفوائد من اللياقة العالية للنبات والاحتمالية العالية للهجوم التى تنتج فى جذور نباتـات نيكوتيانـا اتينيواتا تتركز فى الأوراق الصغيرة والسيقان وأجزاء التكاثر بينمـا الجـذور والأوراق العجوزة تحتوى على مستويات منخفضة . على نفس المنوال فإن توزيع الدفاعات المحفزة داخل المملكة النباتية يفسر عموماً بواسطة العلاقة بين التكلفة والفائـدة المـشتركة فـى خصائص وصفات الدفاع . نظرية الظهور أو الوضوح Apperance theory تتنبأ بـان النباتات بطيئة النمو ذات الأنسجة طويلة العمر والتى تهاجم بواسـطة آكـلات النباتـات تستثمر أكثر فى الدفاعات بالمقارنة بالأنواع سريعة النمو ذات الأنسجة التى تعيش لفتـرة قصيرة والتى عندها ميل أكثر للهروب من آكلات النباتات . وهذه أنـواع تـوائم لياقتهـا بواسطة التعبير عن دفاعاتها المحفزة حيث يتوقع أن تكون تكاليف الدفاع مرهقة وشاقة مع الأنواع النباتية سريعة النمو . تمشياً مع هذا التوقع فإن معظم الأنواع التى سـجلت فيهـا مقاومة محفزة تنمو سريعاً . هناك نظريات أخرى مثل نظرية الاتزان بـين الكربـون / المادة المغذية (C / N) ونظرية المادة الوسيطة / الإنزيم ونظرية النمو / التفرق وهـى محاولات لتفسير تحفيزية نواتج التمثيل الثانوية التى تحدث بشيوع بعـد هجـوم آكـلات النباتات ولكنها لا تنتج من تنظيم يعال إشارياً للتمثيل الثانوى من منطلـق تيـسر المـادة الغذائية أو الوسيط سواء داخل النبات أو خلال تطـوره أو فـى بيئتـه المحليـة . هـذه الفرضيات المدد – الجانبى توضح أن الزيادة فى نواتج التمثيل الثانوى التى يشيع حدوثها بعد هجوم آكلات النبات ولكن كتتابع غير مباشر للتغيرات فى الاتزان التمثيلى الـشامل . ولو أن هذه النظريات ذات قيمة منخفضة كنماذج ميكانيكية فإن المفاهيم التى تقع تحتها قد تساعد فى تفسير توزيع الدفاعات النباتية بالنظر لتكاليفهـا الموضـوعة . كمثـال فـإن الدفاعات المرتبطة بتكثيف الكربون فى الحقيقة يميل للزيادة عندما توجد تحديات فى النمو بسبب محدودية المادة المغذية والتى يعتقد أنها تجعل الكربون أكثر تيـسراً عـن المـواد الغذائية الأخرى . هذا ولو أن هذه التغيرات تنتج أيضاً من الاستجابات المتكيفة بواسـطة النبات للظروف التى تخفى إحلال الأنسجة التالفة .

السمة الرسمية للتكاليف الايكولوجية تتمثل فى الاحتمالات البيئية غير المتوقعة والتى يمكن ملاحظتها فقط فى بيئات خاصة . التكاليف الايكولوجية قد تنتج مـن الفـرق بـين المقاومة والحساسية للأعداء الطبيعية المختلفة وتبادل المنفعة وبـين المقاومـة والتحمـل لآكلات النباتات أو بين المقاومة لآكلات العشب والتأثيرات الناتجة على التنافسية النباتية . الأخيرة تمثل عن طريق حقيقة أن التكاليف الموضوعة الكبيرة يمكن ملاحظتها فقط عندما تنمو النباتات مع متنافسين من النوع ذاته وليس بدونه . الفرق بين المقاومة والحـساسية

للأعداء الطبيعية المختلفة قد تكون ذات أهمية خاصة لبعض الدفاعات غير المباشرة مثل إطلاق إشارات من المواد المتطايرة تحذيرية لجذب كائنات المستوى الغذائى الثالث والذى اتضح أنه فى نباتات نيكوتينيا أتينيواتا نظام دفاع فعال استثنائى يمكن أن يخفض من وفرة آكلات النباتات حتى ٩٠% . ولو أن هذه الاستثمارات الصغيرة فى المركبات العضوية المتطايرة (VOCs) تمثل لأنفاق تكاليف موضوعة قليلة فإن إطلاق المواد المتطايرة قد يزيد من ظهور النباتات إذا قامت آكلات النباتات باختيار المواد المتطايرة VOC's كإشارات خلال السرحان لإيجاد العوائل . بالإضافة لذلك فإن التحفيز المتزامن للدفاعات المباشرة وغير المباشرة قد تحدث تكاليف إيكولوجية وكمثال الدفاع المباشر السام قد يحدث سمية على الكائنات الحية ذات المستوى الغذائى الثالث والتى تنجذب بواسطة إطلاق المواد المتطايرة . لقد وجد أن أشباه الطفيليات تنجذب للمواد العضوية المتطايرة VOC's التى تحفز بواسطة هجوم آكلات النباتات ولكن حيث أن هذه المفترسات تقضى طورها اليرقي فى هيموليمف عوائلها فإنها تتعرض لجميع التوكسينات التى تنتجها النباتات والتى يتم تناولها بواسطة آكل النبات . كمثال دودة الدخان ماندوكاسيكستا تتغذى على أنواع نيكوتيانا المعروف أنها تحفز إطلاق VOC's ومستويات عالية من النيكوتين . M. sexta تبقى كميات من التوكسين فى الهيموليمف بدرجة تكفى لإحداث الموت للدبور شبيه الطفيل الخاصة بها وهو كوتيسيا كونجر يجاتا . ولو أن إطلاق المواد المتطايرة المحفزة بواسطة آكلات النباتات تأكدت أنها تقوم بجذب أشباه الطفيليات فى العديد من الدراسات المعملية إلا أن دورها فى الدفاع النباتى نادراً ما تحقق فى كثير من دول العالم . أهمية هذه التكاليف الايكولوجية فى التأثير على اللياقة للاستجابة المحفزة كبيرة جداً مما يقلل من أهمية اختيار نموذج التكلفة – الفائدة تحت الظروف البيئية الواقعية .

٢- دليل التكاليف الخاصة بالدفاع Defense Costs

٢-١- أنواع الدراسة

نموذج العلاقة بين التكلفة – الفائدة وأساس معظم النظريات حول نشوء الدفاعات النباتية يصعب اختيارها بداية بسبب تعقيدات العمليات الداخلية والخارجية التى تؤثر على دور الخصائص الدفاعية فى تقريز وظائف التكاثر فى الذكور و / أو الإناث . ثانياً أن تكاليف خصائص الدفاع يجب أن تفصل عن الصفات المرتبطة بالوراثة . الدليل الأكثر قبولاً يتمثل فى أن تكاليف اللياقة الحقيقية فى الدفاعات النباتية تنشأ من ثلاثة أنواع من الدراسات :

١- دراسات الإثارة التى تقيس تتابعات اللياقة للدفاعات المنشطة بواسطة استخدام جزئيات إشارية معروف عنها أنها تحفز الدفاعات .

٢- دراسات وراثية كمية التى تربط اللياقة مع التباين الوراثى فى مستويات نـواتج التمثيل الدفاعية داخل مجاميع النبات .

٣- دراسات الطفرية والتحولية التى تقيم تتابعات اللياقة النباتية التى تغيرت (تعبير فائق أو فقد وظيفى) فى التعبير عن جينات خاصة .

٢-٢- دراسات الإثارة أو التحفيز Elicitation studies

معظم دراسات التكاليف حفزت إنتاج نواتج التمثيل الثانويـة بواسـطة الجـروح أو هجوم آكلات اللحوم أو استخدام الجزئيات الإشارية التـى تعـول الاسـتجابات المحفـزة ومقارنة لياقة وأداء هذه النباتات المحفزة مع نباتات المقارنة غير المحفزة . تغذيـة آكـل النبات ولو أنها حقيقة بيولوجية إلا أنه يصعب جعلها قياسية وتكاليف الاستجابات المحفزة يصعب فصلها من تكاليف اللياقة الناتجة من تلف أو فقد النسيج . الجروح الميكانيكية التى تحفز المقاومة فى معظم النباتات تمكن من السيطرة على التلف كمياً ونوعياً وبصفة مؤقتة . جروح التثقيب على وجه الخصوص تسمح باستمرار الفقد فى مساحة الورقة عند حـده الأدنى بينما يستمر فعال فى تحفيز استجابات الدفاع . الدراسة الأولى التى كانـت قـادرة على تقدير تكاليف الدفاعات المحفزة استخدمت نظـم تجـريح مختلفـة لتحفيـز وإثـارة استجابات النبات الدفاعية ولكنها جميعاً أدت إلى حدوث نفس الفقد فى النسيج النباتى . هذا ولو أن الاستجابات التى تم تحفيزها بواسطة الجروح الميكانيكية لم تكن هى نفسها دائمـاً كتلك التى حفزت بواسطة تغذية آكلات النباتات .

حديثاً ازداد فهمنا للجزئيات الإشارية المختلفة التى تعول استجابات النبات الدفاعيـة مما يمكن من عدم دمج تكاليف الدفاع المحفز مع تكاليف فقد النسيج النبـاتى . حيـث أن شلال التأشير بحمض الجسمونيك (JA) معروفة أنها تمول العديد من الاستجابات المحفزة بواسطة آكلات النباتات فإن دراسات عديدة عن تكاليف الاستجابات المحفـزة اسـتخدمت حمض الجسمونيك أو المثيل استر له لتحفيز وإثارة الاستجابات وهذا الاقتراب مكن مـن اختبار نموذج التكلفة – الفائدة فى الطبيعة . فترة حياة إنتاج البذور فى نباتات نيكوتينيـا أتنواتا المعاملة باستر مثيل الجسمونيك النامية فى مجاميع طبيعية كانت أقل من تلك التـى حدثت مع النباتات غير المعاملة إذا كانت آكلات النباتات غائبة . هذا ولـو أنـه عنـدما تعرضت النباتات لمستويات متوسطة أو عالية من آكلات النباتات زادت فوائد اللياقة عـن تكاليف تحفيز حمض الجسمونيك . فى الفجل البرى قام الباحـث Agrawal ومعـاونوه (١٩٩٩) بتقدير تكاليف اللياقة لتحفيز حمض الجسمونيك ليس عن طريق العدد القليـل أو الوزن القليل للبذور ولكن الوقت الذى يمر لظهور أول زهرة وكمية حبوب اللقاح المنتجة . ولو أن استخدامات حمض الجسمونيك لا تحاكى بوضوح الاستجابات لهجـوم آكـلات النباتات حيث أن هذا الهورمون النباتى يعمل ويؤدى وظيفة فى اتجاه المحفزات الخاصـة

لآكلات النباتات التى تنشط تأشير حمض الجسمونيك فى نباتات نيكوتيانا أتينيواتا ومعروف أنه يتداخل مع جزئيات تأشيرية أخرى تحفز بآكلات النباتات خلال طرق ومسارات معقدة . بالإضافة إلى ذلك فإن المعاملات الخارجية لا تميل أو لا تقوم بمحاكاة واقعية لعمل تغيرات متكررة بشكل كبير فى نسيج خاص أو تغيرات انتقالية فى الحزمة الداخلية لجزئيات التأشير التى تحفز بواسطة هجوم آكلات النباتات .

تعريف المثيرات الخاصة لآكلات النباتات مثل مقترنات الحمض الدهنى – الحمض الأمينى (FAC's) فى الإفرازات الفمية ليرقات حرشفية الأجنحة جعلت من الممكن تحفيز هذه الاستجابات النباتية التى تشابه كثيراً الاستجابات التى تثار أو تحفز بواسطة الهجوم الفعلى لآكلات النباتات . ولكن دراسات التحفيز فى العادة غير قادرة على توضيح تكاليف اللياقة لأى دفاع محفز بيوكيميائياً بوجه خاص بسبب أن العديد من الاستجابات تتضمن تغيرات فسيولوجية ومورفولوجية والتى بدورها لا ترتبط بالمقاومة ولو أنها تؤثر على معايير اللياقة . كمثال مع أن النباتات تعول المقاومة لآكلات النباتات فإن حمض الجسمونيك JA تشترك فى العديد من العمليات مثل نضج الثمار وخصوبة حبوب اللقاح ونمو الجذور والتفاف المحاليق ومقاومة مسببات الأمراض النباتية . المعاملة بمشتق الميثيل استر لحمض الجسمونيك Me JA يثبط استنساخ جين البروتينات الضرورية للنمو وكمثال Rubis Co وبروتينات ارتباط الكلوروفيلل a / b ومن ثم تنخفض عملية البناء الضوئى . هذا الخفض يقلل من اللياقة عندما تنمو النباتات تحت ظروف محدودة المصادر أو المدخلات . تنظيم النمو وانهيار بروتينات البناء الضوئى قد تكون ضرورية لتوفير المصادر المطلوبة للإنتاج الجديد لصفات المقاومة ولكنها قد لا ترتبط بصفات المقاومة . فى الوقت الراهن لا نعرف إلا القليل جداً عن الصفات الضرورية والكافية لتحقيق المقاومة. هذه التأثيرات Pleiotropic قد يزيد من تقديرات تكاليف اللياقة الخاصة بالمقاومة فى دراسات التحفيز أو قد تمثل بدقة التكاليف الحقيقية للياقة الخاصة بتحفيز الدفاع عن طريق إعادة ضبط عمليات التمثيل المطلوبة لتنشيط الدفاع .

٢-٣- اقتراب الوراثة الكمية Quantitative genetics

دراسات التحفيز تستخدم المرونة الفينولوجية للنباتات المحفزة لمقارنة لياقة النباتات مع وبدون الدفاعات المنشطة وهناك اقتراب آخر يستخدم التباين الوراثى فى المقاومة . المحاولات المبكرة لتقدير الوضع الوراثى المشترك فى توفير المصادر للدفاع قارنت معايير اللياقة للنسل من عبور الأنواع والأصناف أو المجاميع التى تختلف فى درجة استثمار دفاعها . بسبب أن الاختلافات الوراثية داخل المجاميع تنجز العديد من الصفات بالإضافة لتلك التى تتحكم فى المقاومة فقد استخدمت تحاليل الأقارب وتجارب الانتخاب الصناعية لفحص الارتباطات السالبة بين التباينات الوراثية فى المقاومة وفى اللياقة . فى دراسة رائدة تم استخدام عائلات ذات نصف قرابة لنباتات Pastinaca sativa وتحصل

الباحث Beren baum ومعاونوه (١٩٨٦) على دليل قوى عن هذه الاختلافات الوراثيــة مما أوضح أن المقدرة الوراثية المتحكم فيها لإنتاج دفاع مضاد لأكلات الـورق يــرتبط سالبياً بمعايير اللياقة . إنتاج الفيورانوكومارنيات الذى يفسر ٧٥% من التباين فى المقاومة لأكل نبات خاص ترتبط سالبياً بإنتاج البذور فى غياب آكلات النباتات . وجدت دراســات أخرى ارتباطات سالبة بين صفات الدفاع الوراثية ومعايير اللياقة وكمثــال فــإن الإنتــاج العالى للجلوكوسينولات فى نباتات Brassica rapa ترتبط باللياقة الضعيفة للآفات والقليل من زيارات الملقحات ولكن العديد من الدراسات الأخرى فشلت فى الحصول علــى أيــة ارتباطات مؤثرة بين مستوى المقاومة ونجاح التكاثر . تحليل التمثيــل Meta-analysis الذى أجرى عام ١٩٩٦ قام بفحص الظروف التى تم تقدير التكاليف فى ظلها وقد خلــص البحاث إلى أن حوالى ١/٣ من هذه الدراسات وجدت تكاليف عالية وأن السيطرة الأكبــر فوق الخلفية الوراثية زادت من احتمالية أن صفات المقاومة يمكن الكشف عنها .

٢-٤- دراسات الطفرة والتحول Mutant transformant

التقدم الذى حدث فى الطرق الجزيئية خلال الحقبة الزمنية الماضية مكنت من تغيير جينات دفاع متخصصة ومن ثم حل المشاكل المرتبطة بالعوامل التى تختلف مع التعبيــر الجينى . استخدام المواد المطفرة والنباتات المتحولة التى تعبر عن جينات المقاومة أو تلك التى تتوارى فى التعبير عن هذه الجينات بما يسمح بفحص تتابعات اللياقة ضــد الخلفيــة الوراثية . التعضيد الابتدائى لفرضية أن التعبير التركيبى للمقاومة يخفض من اللياقة التي تتأتى من الطرز الفينولوجية للمواد المطفرة والتى تعبر تركيبياً عن جينات نظم التأشــير والتى تعول مقاومة الممرض النباتى وهذه الطفرات قزمــت النمــو والتطــور تقليــدياً . الدراسات المتتابعة فى الواقع قامت بقياس تتابعات اللياقة لهذه الطفرات . التنشيط التركيبى للمقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) بواسطة الطفرات Cpr6 , Cpr5 , Cpr1 يــنقص من إنتاج البذور فى نباتات أرابيدوبسيس ثاليانا . من الدراسات الرائــدة التــى تــم فيهــا السيطرة الكبيرة على الاختلافات المؤثرة فى الخلفية الوراثية أظهرت أن تكاليف اللياقــة لجين مقاوم خاص مسئول عن المقاومة للممرض بسيدوموناس سيرنجيا . التعبير العقلانى لجين المقاومة R هذا rpml الذى يشفر بروتين غشاء البلازمــا الطرفــى الــذى يعمــل كمستقبل لمحفزات الممرض خفضت من مخرجات التكاثر مــن الأرابيدوبــسيس ثاليانــا بمقدار ٩% . هذا ولو أن الاستجابات الخاصة التى تحفز بواسطة هذا الممرض فى نظام التمييز وهو المسئول عن نقص مخرج التكاثر مازالت غير معروفة .

هناك قليل من الدراسات التى تناولت تتابعات الطفرات أو التحولات فى نقل ونــسخ الإشارة للدفاع ضد آكلات النباتات . فى نباتات سولانم تيوبيروسوم فإن مضاد الحــس – السكون لجين التخليق الحيوى لنظام تأشير الجسمونات (Lox) زادت من إنتاج الدرنات – من المدهش أن الدراسة التى استخدمت المطفر Jor 1 فى نباتات الأرابيدوبسيس الــذى

يعانى من نقص فى تأشير JA وفى التعبير عن مثبطات البروتييز (PI's) وجدت خفض كبير فى إنتاج البذور بعد التحفيز مع JA فى خط التطفير عما هو الحال مع الخطوط البرية (WT) . هذا ولو أن نباتات A.tbaliuna المتحولة وراثياً والتى تعبر عن كربوكسيل مثيل ترانسفيريز (kmt) ومن ثم تزيد من إنتاج Me JA أدت إلى خفض إنتاج البذور .

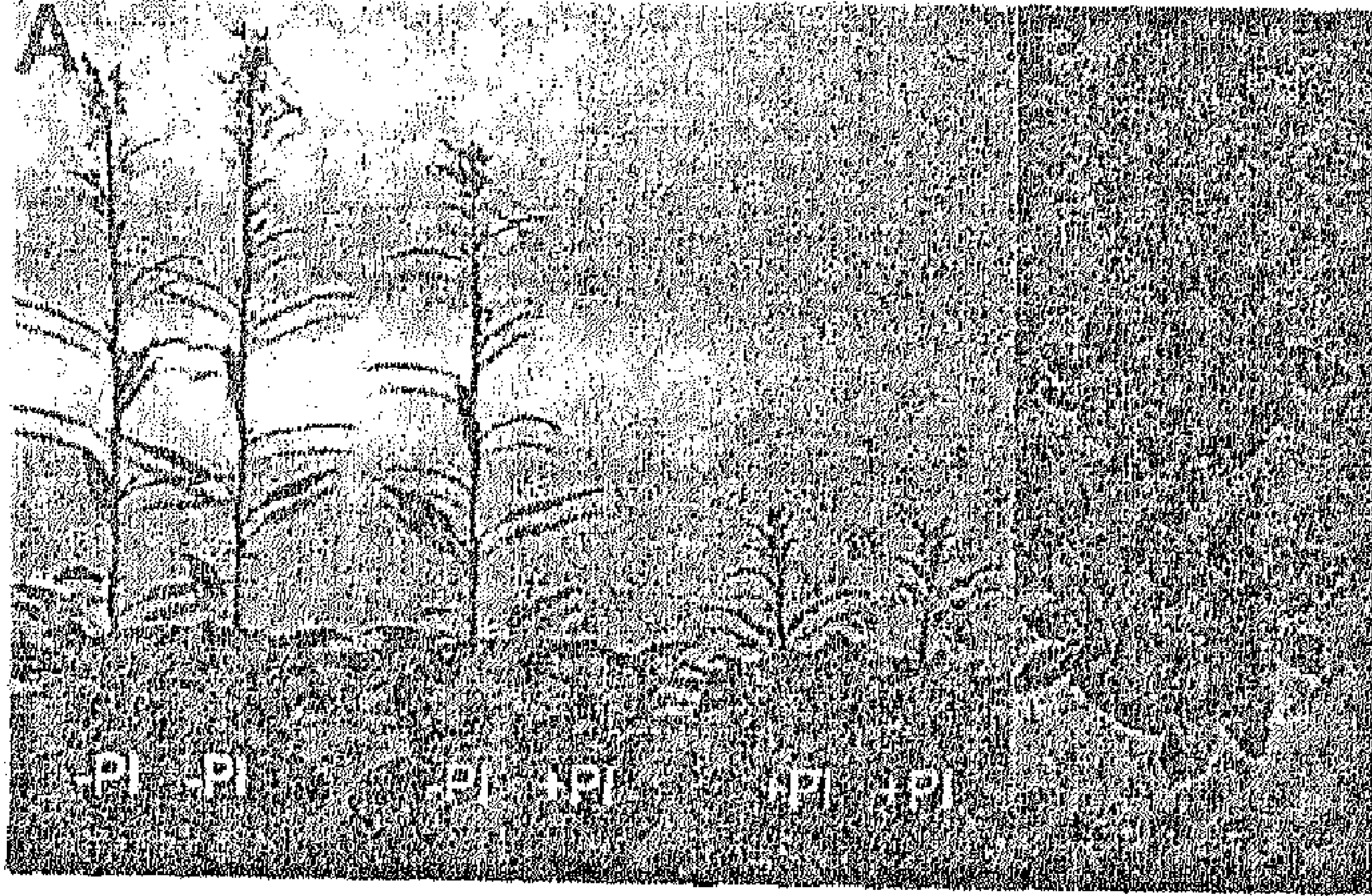
كما فى دراسات الإثارة أو التحفيز فإن استقراء الطفرات الإشارية أو النبات المتحولة وراثياً إلى جزيئات إشارية معبر عنها تركيبياً تحدث بواسطة القواعد المختلفة التى تلعبها الجزئيات الاشارية خاصة ما يتعلق بالسيطرة على النمو والبناء الضوئى . لذلك فإن تكاليف اللياقة لدفاعات خاصة تقدر أفضل فى خطوط متشابهة جينياً والتى تختلف فى جين التخليق الحيوى لصفة دفاعية معينة . بالإضافة إلى ذلك فإنه إذا كانت النباتات متحولة وراثياً للتعبير عن جين معين فإن المكونات الكيميائية والايكولوجية (إذا كان الجين يعبر بغير تجانس) التى يشترك فيها الجين لابد وأن تتغير . التعبير عن صفة دفاعية فى نسيج خاص أو مكون من مكونات الخلية قد تكون ضرورية لتحقيق الوظيفة الدفاعية وكذلك لتقليل تكاليف اللياقة . هذا ولو أن التعبير الخارجى للدفاع فى جميع الخلايا يعطى نتائج زائفة . نواتج التمثيل الأولية والوسط الكيميائى معروف أنها تؤثر على وظيفة نواتج التمثيل الثانوية . بالإضافة إلى ذلك فإن نواتج التمثيل الثانوية تؤثر احدها على الأخرى وكاستجابة لهجوم آكلات الأوراق فإن معظم النباتات تزيد من تركيزاتها من حزمة نواتج التمثيل الثانوى المتنوعة . مقدرة تأثيرات هذا التنوع الكيميائى يمكن أن تحجم بواسطة كبت أو سكون الجينات الداخلية التى تؤثر فقط على إنتاج ناتج تمثيل دفاعى خاص . هذا الاقتراب يسمح بدراسة الوظيفة الايكولوجية وتكاليف صفة خاصة فى وسطها الطبيعى كما ظهر فى حالة مثبطات البروتينيز المحفزة الإنتاج فى نباتات نيكوتينيا أتينيواتا .

حتى نكون قادرين على إرجاع اللياقة أو المتغيرة أو المقاومة إلى الجين المستهدف فإن التتابعات الوراثية للتحول أو خطوات التطفير تحتاج للتوصيف . الخطوط المتحولة وراثياً يجب أن تعول إدخال منفرد لجين التحول كما يجب أن يكون متجانس الزيجوت ومن ثم فإن نجاح الكبت أو تعبير الحس يجب أن يتحقق عن طريق قياس مستويات النسخ للجين المستهدف والطرز الفينولوجية الملاحظة يجب الا تكون راجعة إلى تأثير تشويش الشفرة الوراثية عند موضع الإدخال أو إلى الناقل المستخدم فى التحول .

٢-٥- مثبطات البروتينيز - دراسة حالة

العديد من الأنواع النباتية التى تنتج حمض الجسمونيك JA تحفز مثبطات البروتييز كوسيلة دفاع مباشر . مثبطات البروتييز عبارة عن بروتينات مضادة للهضم تستطيع أن تخفض من أداء العديد من آكلات النباتات عن طريق خفض نشاط بروتييز المعدة . لتقدير ما إذا كان إنتاج مثبطات بروتينيز التربسين تجلب تكلفة لياقة فى ن. أتينيواتا قام الباحث

Zavala وآخرون (٢٠٠٤ – b) بتحويل اثنان من الطرز الجينية ، فى الأول تم كبت إنتاج مثبط البروتييز الداخلى بواسطة إدخال جزء من جين Pi فى توجيه مضاد للحس وفى الثانى حيث الطرز الجينى الذى فيه طفرة غير حسية فى جين Pi تم التعبير تركيبياً عن مثبطات البروتييز (PI's) . النباتات التى تعانى من نشاط PI تنمو أسرع وتكون أطول وتزهر مبكراً وتنتج أكثر من كبسولات البذور (٢٥ – ٥٣% أكثر) عن الطرز الوراثية متساوية الجين التى تنتج PI مع من تينافسون معها (الشكل ٣-١) . لقد كانت النتائج متشابهة بصرف النظر عما إذا كان نشاط PI انخفض فى خطين غير مرتبطين معاً أو ترمم وتعاد إلى وضعها . الاختلاف فى إنتاج أكياس البذور بين الجيران المتنافسة ترتبط مع الاختلاف فى نشاط PI . من الواضح أن إنتاج PI يمثل تكلفة كبيرة للياقة عندما تنمو النباتات تحت ظروف غير تنافسية لهجوم آكلات النباتات والتى تتوافق مع فرضية أن التحفيزية تنشأ كميكانيكية لتوفير التكلفة .



شكل (٣-١) : النمو التنافسى يوضح تكاليف إنتاج مثبط البروتييز (PI) فى نباتات N.attenuata . عندما تنمو أزواج متشابهة الجينات من النباتات التى تختلف فقط فى تعبيرها لمثبطات البروتييز فى نفس الأصص فإن النباتات المنتجة لمثبطات البروتييز تكون خارج المنافسة بواسطة النباتات الخالية من PI وتنتج بذور قليلة بشكل كبير . (A) تميل الطرز الجينية الطبيعية التى تعول الطفرة الناتجة فى كودون الوقف غير الناضج فى جين PI بينما (B) تمثل الطرز الجينية المتحولة متشابهة الجينات إلى إنتاج PI مكتوم بواسطة RNAi . الصور (A) أخذت بواسطة المصور .G Glave والصور (B) أخذت بواسطة المصور H.Wunsche .

أظهرت دراسة لاحقة مع نفس الخطوط متساوية الجينات بعض منهــا لــم تهــاجم والأخرى تم السماح ليرقات M.sexta بالتغذية بحرية وقد أتضح أن النقص فى إعالة PI في اليرقات ترجم الأداء إلى عائد لياقة للنبات فاق تكاليف إنتاج PI تحت ظروف الصوبة الزراعية . مرة أخرى فإن إنتاج مثبطات البروتييز فى النباتات غير المصابة كان مرتبطاً سالبياً مع إنتاج أكياس الحبوب وأتضح كذلك أن الإصابة باليرقات لم تخفض مــن إنتــاج أكياس فقط ولكنها عكست نظام إنتاج كبسولات البذور بين الطرز الجينية كمــا ظهــر أن الطرز الجينية التى تنتج PI بدرجة عالية يكون لها لياقة عالية عن تلك التى تنتج قليــل أو لا تنتج PI على الإطلاق . استخدام النباتات متساوية الجينات التى تغيرت فى التعبير عن جينات دفاعية خاصة مكنت من فحص نموذج التكلفة فى مقابل الفائــدة تحــت ظــروف طبيعية مختلفة . الدراسات الحقلية على نباتات ن. أتينيواتا المهندسة وراثيــاً والتــى تــم خمدها للجينات المرتبطة بالتخليق الحيوى للالكالويد النيكــوتين أو فــى شــلال حمــض الجسمونيك التى تحفزه أظهرت فعلها كدفاعات مضادة لآكلات الأوراق فى الطبيعة .

٣- تأثير الارتباط The impact of Linkage

٣-١- أنواع الارتباط

التعبير عن خصائص الدفاع يمكن ربطها مع صفات أخرى بواســطة ميكانيكيــات مختلفة . الجينات التى تعول المقاومة ترتبط بجينات أخرى تقع على نفس الكروموســوم . حتى مع هذا فإن هذا الارتباط يشوش أو يختل بواسطة العبور خلال التكاثر الجنسى فــإن الجينات القريبة من بعضها البعض قد لا تنعزل بشكل غير مستقل وهذا الاستقلال يمكــن تحديده كمياً على صورة عدم الاتزان للربط . فى نباتات A.thaliana فإن التشكل المتعدد Polymorphisms يكون غير مستقل تقليدياً إذا كانت بعيدة أو منفصلة بــأكثر مــن ٥٠ كيلو متر بينما تحت مسافة أقل من هذه يكون عدم الاتزان الرابطــى كبيــراً ومعنويــاً (Plagnol et al., 2005) . ولو أن هذه عبارة عن تقديرات غير دقيقة حيــث أن موقــع الجين فى المناطق الكروموسومية الخاصة تؤثر بشكل كبير على معدل الدمج . التقدم فى تحفيز الارتباط الوراثى تجاه جين المناورة أنقصت من العديد من التأثيرات المؤثرة التــى لها اختبارات مزعجة عن نموذج التكلفة فى مقابل الفائدة ولكن أى من الاقترابــات التــى ذكرت قبلاً استبعدت التأثيرات الأخرى من جراء ارتباط صفات الدفاع مع التمثيل النباتى.

إزالة أو استبعاد مكون واحد فى ماكينة التمثيل تأكد أنها تسبب تغيرات فى انــسياب ناتج التمثيل والذى يعود بدوره إلى تنظيم عملية التمثيل خلال التغذية الرجعيــة المعقــدة والسيطرة اللاحقة . الدرجة التى يتغير فيها التمثيل تعتمد على كيفية تنظيم الصفة وكيــف تشترك بعمق فى ماكينة التمثيل . الدرجة الكبيرة التى عندها تؤثر مختلف مسارات التأشير التى تنظم جينات المقاومة على التمثيل واضحة ولكن التغيرات عنــد الفــروع النهائيــة

لمسارات التمثيل يكون لها تتابعات بسبب البادئات المتراكمة أو المنتجات الجانبية . لـذلك فإن مقارنة نباتين مختلفين وراثياً فى التعبير عن جين مقاومة مفرد قد تتـضمن تتابعـات تمثيلية متغيرة . هذه التغيرات قد تكون المسبب أو تتابعات تكاليف الدفاع .

بالإضافة إلى الارتباط الجينومى والتمثيلى فإن الارتباط الوظيفى يؤثر كـذلك علـى تكاليف وفوائد صفات الدفاع . كيف أن وظائف صفة الدفاع تعتمد على وجود أو غيـاب نواتج التمثيل الأخرى محل الاعتبار . التكاليف الايكولوجية للدفاع المباشر السام العريض الذى يتداخل مع الدفاعات غير المباشرة عندما تختار آكلات النباتـات المتحملـة صـفة المقاومة النباتية لدفاعاتها الخاصة وهذا مثال معروف . بالإضافة إلى ذلك فـإن وظـائف صفات الدفاع المختلفة قد ترتبط بشكل مباشر : التداخلات التنشيطية كمثال فـإن زيـادة المقاومة فوق مجموع المقاومة التى تتحقق بواسطة كل وسيلة أو صفة دفاع فردية . مـع زيادة الفوائد أكثر من تكاليف الدفاع فإن الارتباط الوظيفى قد يكون فـى غايـة الفاعليـة كميكانيكية توفر التكاليف .

٣-٢- الارتباط التمثيلى Metabolic linkage

الصعوبات فى حل أو فك تكاليف اللياقة للموارد المعينة إلى صفة دفاع خاصة مـن تتابعات اللياقة للتغيير فى الموضع الناتجة من عمليات أخرى التى تنشط خـلال التحفيـز ذكرت فعلاً . بالإضافة إلى ذلك فإنه ليس واضحاً ما إذا كان فى الطرز الجينية متـساوية أو متشابهة الجينات غير القادرة على التعبير عن صفة خاصة فإن الموارد التى لم تستخدم فى الدفاعات يعاد توجيهها المباشر حتى تكون متاحة للنمو والتكاثر . تحـولات وضـع الموارد المطلوبة للدفاع قد تحدث بعيداً عن تيار مسار جزء التخليق الحيوى الموجه لإنتاج ناتج التمثيل فعلياً خاصة إذا كان الدفاع ينتج بواسطة مسار طويل متعدد الخطوات . مـن الأمثلة الفسيولوجية التى درست جيداً عن هذا الدفاع ما يتمثل فى تراكم النيكـوتين فـى الأوراق فى النباتات أنواع نيكوتيانا التى هوجمت . هذا التراكم يتضمن فصل مكانى كبير بين موقع التخليق وموقع هجوم آكل النبات ومن ثم يكون مطلوب نظام تأشـير لمـسافة طويلة حتى يتم تخطى الفراغ .

الزيادة المحفزة للنيكوتين فى سوق نباتات نيكوتيانا سيلفستريس وكذلك ن . أتينيواتـا تعال بواسطة تأشير حمض الجسمونيك وينتج من زيادة التخليق الحيوى للنيكوتين الجديـد الذى يحدث فى الجذور . فى كلا النوعين فإن تحفيز الأوراق بواسطة الميثيل جـسمونيك آسيد Me JA تزيد من نسخ إنزيم Putrescine N-mthyl ويختـصر (PMT) وهـو الإنزيم الذى ينظم التخليق الحيوى للنيكوتين . الاشارة التى تتحرك من مكان الهجوم إلـى الجذور لتحفيز التخليق الحيوى للنيكوتين تنتقل عبر اللحاء بينما ينتقل النيكوتين فى الساق عبر الخشب . تجارب التعقب Pulse. – chase مع نظير النتروجين 15N أظهـرت أن اختزال النتروجين والتمثيل لم تتأثر بعد التحفيز ولكن نسبة النتـروجين المختـزل التـى

تخصص للنيكوتين تتضاعف . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بأن التخصص الكبير لتكاليف إنتاج النيكوتين قد ترجع إلى تحول في تخصيص النتروجين خاصة بسبب أن النيكوتين لا يهدم بشكل كافي في عملية التمثيل لإعادة تدوير نتروجينية كي يستخدم في التكاثر . تحفيز نباتات ن . أتينيواتا بواسطة إستر ميثيل جسمونيك معاملة الجذور بهدف تنشيط تخليق النيكوتين بوجه خاص خفض من إنتاج الجذور بمقدار ٤٣ – ٧١% في تجارب الصوب الزراعية وبمقدار ١٧ – ٢٦% في الزراعات الحقلية والمجاميع المتوطنة من النباتات التي لم تهاجم بواسطة آكلات النباتات . تحفيز الجذور بواسطة MeJA سوف يحفز العمليات بالإضافة إلى تلك المطلوبة للتخليق الحيوى للنيكوتين . للتغلب على هذه التأثيرات الثانوية للتحفيز بالمثيل جسمونات وكسبت جين Pmt بواسطة RNAi والخطوط المتشابهة الجينات لنباتات ن . أتينيواتا تم إنتاجها وفيها تراكم أقل بمقدار ١٠% من النيكوتين عما هو الحال مع نباتات WT . هذا ولو أن هذه الخطوط فيها تراكم مستويات من الالكالويد التي لم يكشف عنها في نباتات WT وهي أناتابين Anatabine وهو يساوي ربع مستويات النيكوتين في نباتات WT . كبت PMT يحدث خلل في التخليق الحيوى للنيكوتن عند تكوين حلقة البيروليدين الخماسية . تجارب التعقب مع حمض نيكوتينيك الثانوى وهو بادىء حلقة البيريدين السداسية للنيكوتين أظهرت أن زيادة ديمرة حمض النيكوتينيك لتكوين مركب الأناتابين . لذلك فإن التخليق الحيوى للنيكوتين يتحقق ويوجه بواسطة كبت الإنزيم المنظم والزيادة المحفزة في نواتج التمثيل المحتوية على النتروجين في مسار التخليق الحيوى للنيكوتين لا يحدث لها خلل كامل كما تأكد من تراكم المنتج الجانبي الجديد . لم يتحصل على دليل أن بادىء الحلقة الخماسية (Putrescine) يتراكم. مشتقات Putressine المعروف عنها التراكم بعد التحفيز بواسطة مثيل جسمونات (مثل Caffeoylputrescine) لم تظهر أية تغيرات كتتابع لكبت PMT . هذا ولو أن ربع النتروجين الذى يخصص عادة للنيكوتين مازالت مخصصة للالكالويد (Anatabine) حتى مع كبت PMT . هذا المثال يعطي تقديرات أقل من الواقع عن أهمية التوصيف الواقعي لتمثيل الخطوط القاصرة في إنتاج الدفاع وبأكثر عمومية عن أهمية الارتباط التمثيلي في دراسة تكاليف الموضع .

قد يحدث الارتباط التمثيلي كذلك إذا كانت إنزيمات التخليق الحيوى لناتج التمثيل الثانوى ذات وظيفة مساعدة إضافية في التمثيل الأولى أو إذا كانت المنتجات نفسها تنظم عمليات أخرى . لذلك فإن إنتاج مثبطات البروتييز PI's في نباتات ن . أتينيواتا تعمل كوسيلة دفاعية عندما يتم تناول PI's بواسطة آكلات النباتات كما أنها قد تقوم بتنظيم البروتييز في النبات كذلك . ما إذا كانت تكاليف اللياقة لإنتاج مثبطات البروتيز PI تنتج من تكاليف تخصيص الموارد أو من الوظائف الفسيولوجية البديلة مثل تنظيم البروتييز الداخلي مازالت مطلوبة التقدير . لتحديد أو تقدير ما إذا كانت تكاليف اللياقة الدفاع ترجع

إلى تحول تخصص المصدر من النمو والتكاثر إلى تمثيل ثانوى حيث أن انسياب المصادر المحددة للياقة فى هذه الصفات . هذا ممكن فى تجارب التعقب مع المصادر المحددة للياقة المعلمة إشعاعياً . الارتباط التمثيلى فى مقابل الوظيفة الثانوية لمثبطات البروتييز فى نباتات ن . أتينيواتا قد تفسر لماذا أن النقص فى PI's فى الطرز الجينى الطبيعى مع الطفرة غير الحسية تندمج مع نقص فى انفراد جاذب المفترس سيس – الفا – برجاموتين وبالتبادل فإن هذه الصفات قد ترتبط وظيفياً كذلك .

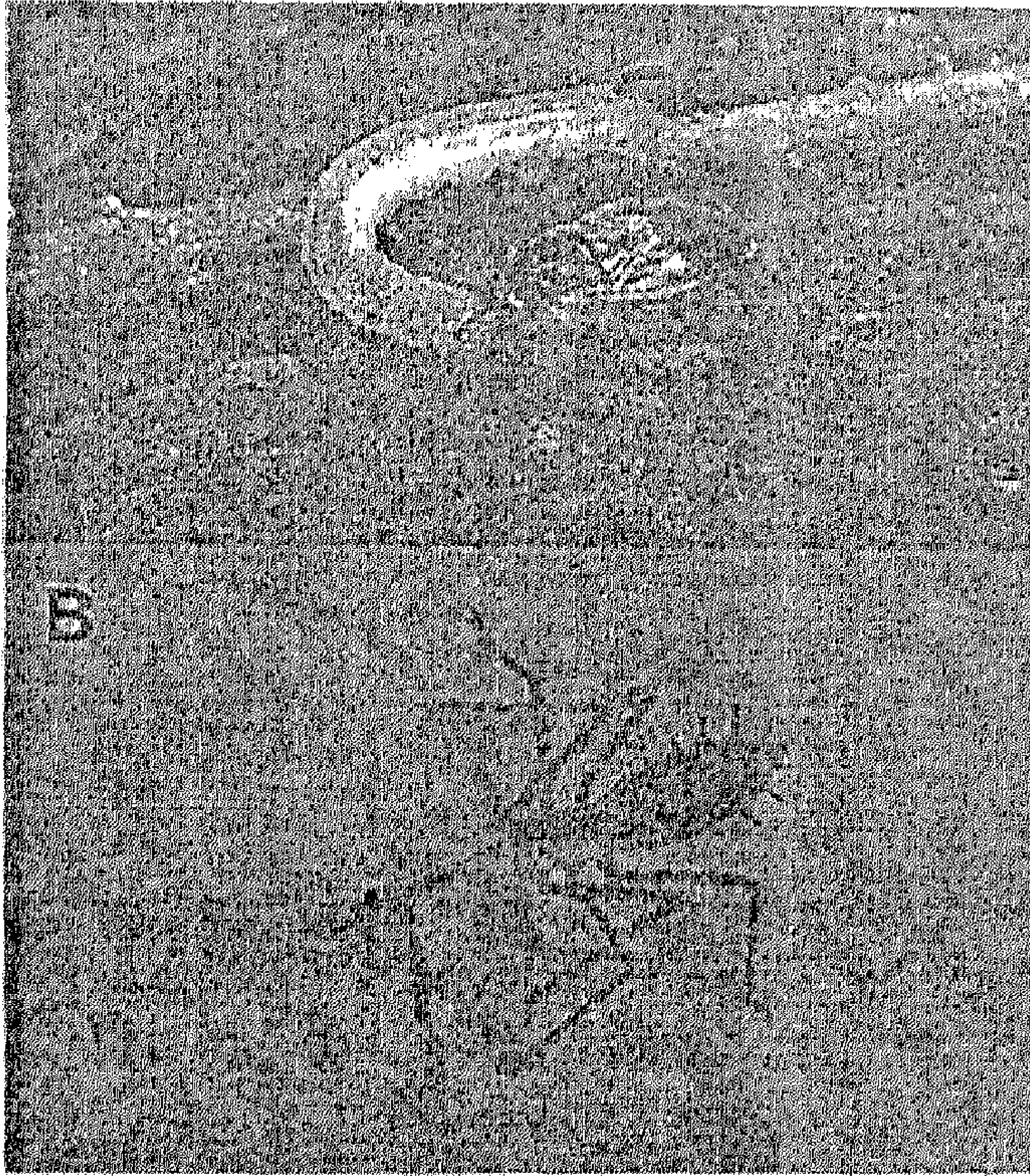
٣-٣- الارتباط الوظيفى Functional linkage

بسبب أن النباتات تنتج كوكتيل من الدفاعات الكيميائية والوظيفية المتنوعة فإن هناك جدال منذ فترة طويلة عما إذا كانت هذه المخاليط من نواتج التمثيل الثانوية ذات قيمة للتكيف . الميزة الاختيارية لإنتاج مخاليط من الألليلوكيميائيات المختلفة قد تكون فى مدى أعرض للأعداء الذى تحفز الدفاعات ضدها حيث تزداد سمية المخاليط أو تؤخر نشوء مقاومة آكلات النباتات للدفاعات النباتية . الوظائف الدفاعية للمواد الالليلوكيميائية فى العادة تختبر منفصلة بصرف النظر عن التداخلات التنشيطية بين نواتج التمثيل الثانوية . الارتباط الوظيفى قد يسمح للنباتات بتحول تتابعات اللياقة لنواتج التمثيل الدفاعية تجاه الفوائد داخل منظومة التكلفة فى مقابل الفائدة .

وجود الارتباط الوظيفى بين إنتاج مثبطات البروتييز PI فى نباتات ن . أتينيواتا وانفراد المواد الكيميائية المتطايرة VOC فإنها تتقاسم نفس المحفز ومن ثم تعبر بتناسق إذا كانت وظائف الدفاع يعتمد كل منها على وجود الآخر . بسبب أن إنتاج PI ينقص من معدلات نمو آكلات النباتات بواسطة تثبيط عمليات الهضم فى الحشرات فإن العلاقة بين فوائد اللياقة للتعبير عن مثبطات البروتييز قد تنتج من امتداد الفترة التى خلالها يحدث هجوم الأعداء الطبيعية على اليرقات بنجاح . المفترسات فى المأوى الأصلى لنباتات ن . أتينيواتا ما هى إلا بق مفترس صغير يفترس الأطوار الصغيرة فقط من آكلات النباتات من حرشفية الأجنحة الكبيرة مثل أنواع Mandnca (الشكل ٣-٢) . هذا يعنى أن الفائدة الدفاعية للتعبير عن PI يجب أن تزداد إذا كانت النباتات نفسها تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات . تحت ظروف الصوب الزراعية فإن إنتاج PI يزيد من اللياقة النباتية عندما تهاجم النباتات بحشرة M.sexra حتى مع غياب المفترسات ولكن فوائد اللياقة لمثبطات البروتييز يجب تقديرها فى البيئات الطبيعية مع مجتمع آكل النبات المتوطن .

هجوم آكل النبات يحفز حمض الجسمونيك JA الذى يعول وينسق الزيادة فى كلا مثبط البروتييز PI ومستويات النيكوتين . عندما يحدث كبت لوسيلتى الدفاع هاتين كل على حدة فى نباتات ن . أتينيوانا فإن كل منها يعمل بفاعلية كدفاع ضد واحد من آكلات النباتات العامة هذه وهى الدودة الخضراء أو القارضة Spodoptera exigua . هذا ولو

أن كبت PI والنيكوتين فى تزامن أوضح أن وظيفة الدفاع لمثبطات البروتييز يعتمد بدرجة كبيرة على وجود النيكوتين : يرقات الحشرة تعمل أفضل وتستهلك أكثر على النباتات المنتجة لمثبط البروتييز PI ولكن النباتات التى تعانى من نقص النيكوتين عما تستهلكه على النباتات التى حدث فيها كبت وخمود لوسيلتى الدفاع هذه . سبب التنشيط يتمثل فى الاستجابات التعويضية لليرقات التى تتغذى على غذاء يحتوى على مثبطات البروتييز . النيكوتين يمنع الحشرة S.exigua من التعويض الفائق للنشاط المضاد للتغذية لمثبط البروتييز بواسطة زيادة الاستهلاك . لذلك فإن نشر وسيلتى الدفاع هذه تقدم وتحقق تنشيط التداخلات التنشيطية للدفاعات نادراً ما تم دراستها .



شكل (٣-٢) : المفترسات المتوطنة التى تفترس العمر اليرقى الأول من حشرة M.sexta والتى يزداد وزن جسمها ١٠٠٠٠ مرة من الانسلاخ خلال خمسة أعمار حتى التعذر . Geocoris pallens (A) هى المفترس السائد فى المأوى المتوطن ن . أتينيواتا خلال موسم النمو وحوريات Reuvibae (B) وهى مفترسات فى وفرة خلال التزهير وتكوين البذور . مع وصول الحشرة S. sexta للعمر الثالث اليرقى فإن كلا المفترسان يكونا أصغر من الضحية . الدفاعات المحفزة غير المباشرة التى تؤخر

نمو وتطور آكل النباتات تزيد من احتمالية الافتراس بواسطة إطالة الفترة خلال فترة هجوم المفترسات الصغيرة لهذه اليرقات .

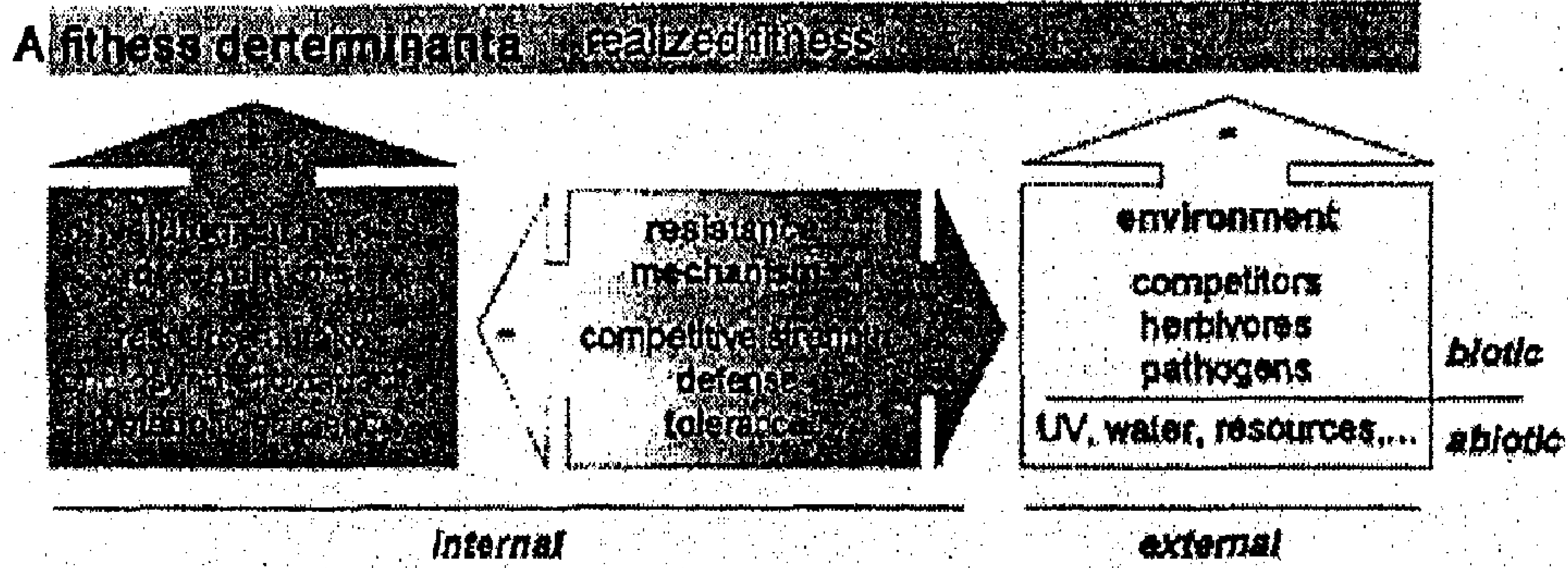
٣-٤- رؤية ديناميكية تكاليف وفوائد الاستجابات المحفزة

خلاصة القول أنه ولو أن النظريات حول ايكولوجى ونشوء الدفاعات النباتية تبنى على مخرج العلاقة بين التكاليف والفوائد فإن الدليل عن التكاليف نادر الوجود . هذا بسبب صعوبات فصل تكاليف اللياقة لصفة دفاعية معينة عن الصفات الوراثية والتمثيلية والوظيفية المرتبطة . التقدم فى الطرق بما يسمح بالسيطرة على الخلفية الوراثية والارتباط الوراثى أصبحت واقعاً ولكن لكى نستوضح الأدوار الكاملة عن طيف القواعد التمثيلية والايكولوجية للدفاعات المحفزة يكون مطلوباً إجراء تحليل تفصيلى عن تتابعات الاستنساخ والتمثيل . التحفيز بواسطة محفزات خاصة من آكلات النباتات معروف أنه يؤدى إلى تغيرات كبيرة في مكون النسخ Tran scriptome ومكون التمثيل Metabolomes فى النباتات . التغير المفرط فى التمثيل الأولى (كمثال التنظيم التحتى للتمثيل الضوئى) الذى يصاحبه أو يصاحب بشيوع تحفيز الدفاع قد يكون مطلوباً لإعادة تخصص الموارد للتمثيل الثانوى للطاقة . كبديل فإن التحول التمثيلى قد يعمل بنفسه كوسيلة دفاع . الاستجابة المحفزة لآكل النبات فى ن . أتينيواتا يتضمن إعادة التناسق للعلاقات بين المصدر – المغطس فى النبات ومن ثم فقد ثبت حديثاً أن بعض نواتج البناء الضوئى تنتقل للجذور عما هو الحال عبر الأوراق الصغيرة . هذا التحول يعال بواسطة التنظيم التحتى السريع لتحت وحدة (GAL 89) لإنزيم الكينيز المرتبط مع SNF-1 (SnPK 1) فى الأوراق التى هوجمت . هذه الاستجابة المتنوعة للكربون تؤدى إلى زيادة مخزونات الجذور والتى تؤخر الشيخوخة وتطيل من فترة التزهير وإنتاج البذور . المستودع الذى يعول Snkkl لنواتج التمثيل الضوئى إلى الجذور يسمح للنباتات لتحمل أفضل لهجوم آكلات النباتات ولكنها قد تعمل كذلك كدفاع سلبى Passive defense بواسطة نقص القيمة الغذائية لآكلات النباتات الباقية فوق سطح الأرض .

الرؤية الأبسط للدفاعات المحفزة والتى تعبر بداية عن الدفاع تنشأ حتى تصبح محفزة ومن ثم خفض تكاليف الدفاع عندما لا تكون الدفاعات مطلوبة وهذه يصعب موائمتها مع الطبيعة المعقدة والمرنة لتمثيل النبات . الروابط المتنوعة بين مختلف الاستجابات لآكلات النباتات أدت إلى الاقتراح برؤية ديناميكية أكثر للتكاليف والفوائد للدفاع المحفز وهذه يجب أن تكون أكثر ملائمة . لياقة النبات تعتمد على العوامل الداخلة والخارجية .Fig . 3.3A) (1 . الأخير عبارة عن الظروف البيئية تتضمن المصادر والضوء والماء وتيسرها وكذلك الإجهادات الحيوية واللا حيوية . العوامل الداخلية تبدأ بالسعات الفسيولوجية مثل معدلات امتصاص وصعود المصدر ومعدلات البناء الضوئى والكفاءة التمثيلية ، وثانياً مقدرة عملية التمثيل لصيانة هذه السعات والقدرات تحت الضغوط البيئة التى تعود عليها النبات .

ميكانيكيات المقاومة للنبات هى الوسائل التى يتم ضبط التمثيل النباتى بواسطتها لتعظيم مخرج التكاثر فى مقابل صلة التنوع للاجهادات التى تواجهها النباتات . تكاليف ميكانيكيات المقاومة الناتجة من العلاقة بين تعظيم القدرة الفسيولوجية و (١) زيادة مستوى الإجهاد و (٢) تحديد مدى الظروف التى تكون هذه القدرات ملائمة و (٣) من المخرجات والعلاقة بين ميزة مرونة الطرز الفينولوجى (مثل المقاومة المحفزة) وعوائقها مثل التوريث المتأخر من التنشيط المحفز (Fig.3.3B) .

فى الطرز الجينى أو الوراثى الذى ينتج وسائل دفاع أكثر ضد آكلات النباتات فإنه قد يؤدى هذا الإنتاج إلى نقص اللياقة تحت الظروف التى يكون فيها الطرز الجينى الأقل دفاعية عنده أقصى لياقة . هذا ولو أن التغيرات البيئية الصغيرة قد تعكس مخرج اللياقة هذا . الظروف التى يكون تحتها الطرز الجينى الأفضل دفاعية يحقق أقصى لياقة تميل للتغير بسبب الارتباطات التمثيلية والوظيفية . بواسطة نشر الدفاعات المحفزة فإن النباتات قد تكون قادرة لزيادة فرص اللياقة بالنظر للاجهادات العديدة حيث أن المخرجات مع مقاومة الإجهادات الأخرى تحدث فقط عندما تكون مطلوبة . الدليل المتزايد بين تداخل التأشير للاستجابات المحفزة المختلفة أدت إلى الاقتراح بأن النباتات قادرة على تدقيق Fine – tune عمليات التمثيل التى تقوم بها لتعظيم اللياقة تحت خليط من الإجهادات المختلفة . من أمثلة هذا التداخل الذى يعتمد على التركيز بين الساليسيلات (SA) المرتبطة بالممرض وتأشير حمض الجسمونيك المرتبط بأكل الأوراق فى نباتات ن . تاباكوم (Mur et al. 2006) . تأشير حمض الجسمونيك JA والسلسليك آسيد SA ينشط احداهما الأخرى عند التركيز المنخفض ولكن مع التركيزات العالية فإنها قد تضاد احداهما الأخرى من حيث التخليق الحيوى ومنظومة التأشير المتتابعة . لذلك فإن إعادة الترتيب المحفز للتمثيل لزيادة مقاومة آكل النباتات تغير من المقدرة الفسيولوجية وقدرتها على صيانة هذه القدرات تحت ظروف إجهادات بيئية أخرى . هذه الرؤية للدفاعات المحفزة لا تفترض وجود تكاليف دفاعات داخلية والتى يمكن حسابها فى تكاليف المدخلات أو الطاقة ولكنها تشير إلى الاحتمالات البيئية لتكاليف الدفاع .



B area of realized fitness

tradeoffs between:

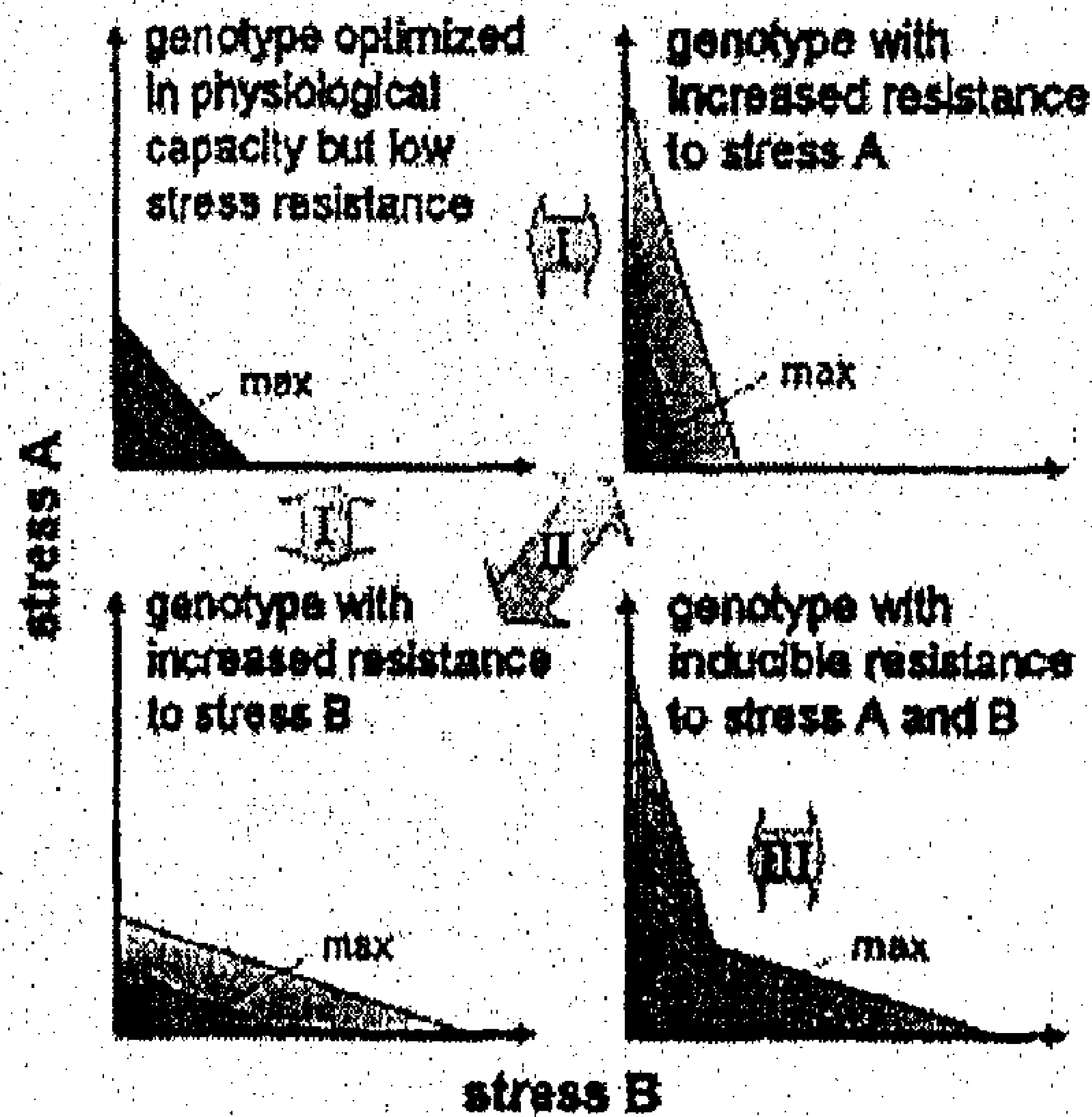
I physiological maximum fitness and stress resistance

II resistance to different stresses

III cost-saving inducibility and delay resistance

max = fitness maximum at optimal conditions

FITNESS
0 50 100



شكل (٣-٣) : (A) تصور مفهومى عن كيف أن العوامل الداخليـــة والخارجيـــة تحـــدد اللياقة التى يستطيع النبات تحقيقها . الظروف البيئية تتفاوت تبعاً للعديـــد من الاجهادات الحيوية واللا حيوية التى تؤثر على اللياقة فـــى النبـــات . ميكانيكيات المقاومة التى تنشط بواسطة هذه الاجهـــادات تـــضبط تمثيـــل النبات ومن ثم قوائم القدرات الفسيولوجية فى تنوع البيئات التى يعيش فيها النبات. (B) ميكانيكيات المقاومة التى تزيد من درجة اللياقة عندما تنمـــو النباتات فى بيئات فيها اجهادات خاصة وتغير الظروف التى فيها يحـــدث أقصى لياقة . زيادة المقاومة لبعض الإجهادات تـــؤدى إلـــى مخرجـــات مختلفة بالنظر للقدرات الفسيولوجية أو المقاومة لاجهادات أخـــرى وهـــذه

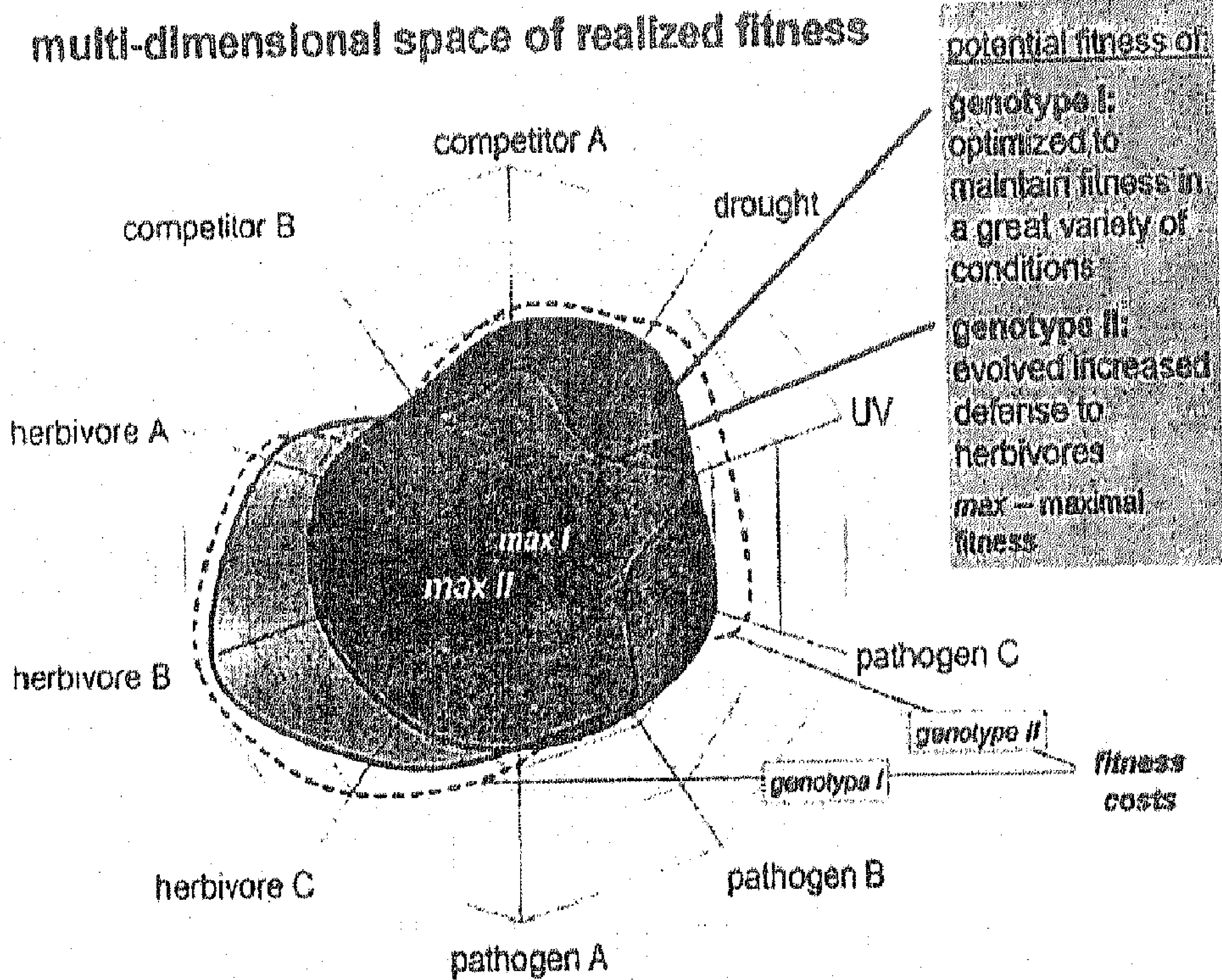
التكاليف يمكن تقليلها عندما تنتشر المقاومة تحفيزياً وهى تنتج تكلفة من التأخير فى تنشيط الصفات المسئولة عن المقاومة .

٤ - الاستنتاجات Conclusions

القبول الواسع لفرضية أن دفاعات النباتات مكلفة وهذا من جراء انعكاس خبراتنا واعتقاداتنا من أن ما يفيدنا يكون مكلفاً عما هو الحال من وزن الدلائل التجريبية ومخرجاتها . معدل البناء الضوئى قد لا يكون بالضرورة العامل المحدد الأكثر أهمية لنمو النبات ومن ثم كمية الكربون المتحولة من النمو إلى إنتاج وسائل الدفاع وقد لا تكون أفضل عمله لقياس التكاليف خاصة عندما تكون المصادر بخلاف الكربون أكثر تحديداً للنمو . تقسيمات التمثيل إلى تمثيل أولى أو ثانوى وإلى الدفاع ضد آكلات النباتات أو مقاومة الممرضات النباتية وهكذا وهذه التقسيمات تفيد فى التعبير عن تعقيدات تغيرات التمثيل فى ذات معنى أكثر ولكن هذا التعبير قد لا يساعد فى التساؤلات التى لا يمكن الإجابة عليها إلا من خلال اللياقة فى نظرية داروين . مسارات التمثيل المختلفة ترتبط بطرق معقدة كما فى لعبة جمع العصى فإن تغيير صفة خاصة بدون اختلاف يكون لها تشعبات خلال التمثيل . ربما أن الاستجابات المحفزة لآكلات الأوراق لا تساهم أوتوماتيكياً فى تكلفة اللياقة ولكنها تخفض من قابلية النبات لموائمة لياقته مع التغيرات البيئية . الاستجابات المحفزة يمكن أن ترى كاستجابات تغير ليس فقط اللياقة الفسيولوجية القصوى ولكن تغير كذلك حجم وشكل وموقع أو موضع فرص النبات لتحقيق اللياقة فى مكان متعدد الأبعاد للظروف البيئية التى يجب أن يحتلها كل نبات بنجاح خلال حياته . هذه النظرة للتكاليف والفوائد موضحة فى الشكل (٣-٤) موضحاً نوعان من الطرز الجينية أحدهما يتضمن دفاع أكبر ضد آكلات النباتات . هذا الطرز الوراثى (II) مازال قادراً على التكاثر تحت غزو مستويات عالية من آكل النبات ولو أن هذه الفوائد تجابه يتحدى من جراء المقاومة القليلة للممرض والجفاف والمنافسين . الأخيرة أى المنافس يعنى الظروف التى تفيد الطرز الجينى الآخر (I) ولكن على حساب المقاومة المحفزة لآكل النبات . بعد ذلك فإن تحت العديد من الظروف فإن نوعى الطرز الجينية تستطيع تحقيق لياقة مقارنة وتخفض من النقطة الأساسية : تكاليف الدفاع ليست مطلقة ولكنها ذات احتمالية بيئية عالية .

إذا كان إنتاج الدفاعات النباتية ليست مكلفة حقيقة فإن موائمة التكلفة قد لا تكون سبب الدفاعات المحفزة . النموذج الذى لا يفترض أن تكاليف حدوث الدفاع تمثل النموذج المتحرك للهدف ينادى بأن التحفيز ينشأ لإيجاد تغيير فى تمثيل الطرز الجينى لآكلات النباتات . بسبب أن التباين الغذائى ينقص من أداء آكلات النباتات فإن التحفيزية قد تمثل بنفسها استراتيجية دفاعية . فرضية أخرى لا تعول على التكاليف تفترض أن القيمة المتطورة للتحفز تنشأ من زيادة مستوى الدفاع إلى مستويات سامة عالية عند الوقت الذى

يكون فيه آكل النبات فى مرحلة الشراهة القصوى Voraciou ومن ثم ينشط آكل النبــات للتحرك فى اتجاه منافس مجاور . كل هذه الفرضيات تتضمن نموذج التكلفة فــى مقابــل الفائدة مع افتراض أن التحفيز عبارة عن صفة مشتقة وتعبير تركيبــى لظــروف الــدفاع التشكيلى . هذا ولو أن الدفاعات قد تملك فى الأصل كــل التعبيــرات المحفــزة وتطلــق تعبيرات تركيبية تحت ظروف خاصة . إذا كانت التكاليف ليست هى القوة الدافعــة وراء نشوء الدفاعات النباتية المحفزة فإنه قد تنشأ كذلك تحت ظروف هجوم آكل النبات العــالى والمتنبأ به حتى لو كان معبر عنه بصفة دائمة . هذا يتفق مع الملاحظــات بــأن الــدفاع المحفز شائع بصرف النظر عن حقيقة أن آكلات النباتات موجودة فــى كــل مكــان وأن هجومها على النباتات لا يلين ولا يخف Relentless .



شكل (٣-٤) : نموذج التكاليف والفوائد والدفاع المحفز فى مكان متعدد الأبعــاد مــن الظروف البيئية . داخل هذا المكان فإن كل طرز جينى للنبات له فرصــة محدودة لتحقيق مستوى معين من اللياقة . لياقة الطرز الجينى مع زيــادة المقاومة لواحد أو أكثر من الاجهادات البيئية تكون مقيدة تحت الظــروف المختلفة . لياقة الطرز الجينى (II) (الرمادى الفاتح) مع زيادة الــدفاع المضاد لآكل النبات كانت أقل عما هو الحال مع الطرز الجينى (I) الأقل دفاعاً (رمادى غامق) فى البيئات ذات المستويات العالية من المنافــسة والجفاف وهجوم الممرض (الخط المنقط على اليمين) . هذا ولو أنه فى

البيئات ذات المستويات العالية من هجوم آكل النبات (الخط المنقط على اليسار) تكون لياقة الطرز الجينى (II) أكبر من الطرز الجينى (I) . فى البيئات متوسطة الإجهاد (فى الوسط مع المناطق المتداخلة) فإن الطرازين يكون لهما مستويات لياقة متشابهة .

من جهة أخرى فإن التحفيز بذاته قد يكون صفة أو خاصية مكلفة يصعب فحصها بسبب أن هذه التكاليف تحتاج لفصلها عن تكاليف إنتاج الدفاع وغيرهما من الصفات المحفزة . تكاليف صيانة نظم التأشير المطلوبة والتى تختار من العمليات الخاصة بالتطور يفترض أن تكون صغيرة بوجه عام . لقد اقترحت بعض الدراسات أن مرونة الطرز الفينولوجية المورثة لتعبير الدفاع مكلفة ولكن ميكانيكية التأثير تظل غير واضحة . الخلفية الواضحة للتحفيز تتمثل فى التنشيط المتأخر للدفاعات وأن النباتات قد تواءم فوائد التحفيز بواسطة زيادة مقدرتها على التنبؤ بالهجوم من الأعداء الطبيعية . الميكانيكيات المؤثرة لهذه الظاهرة قد تكون فيما يعرف باسترقاق السمع Eaves dropping على النباتات المجاورة للاشارات المنبعثة بواسطة النباتات التى هوجمت (مثل Me JA أو VOC) أو ذاكرة المهاجمات السابقة . كمثال فإن النباتات التى تستجيب لهجوم الممرض مع زيادة المقاومة لهجوم ممرض فى المستقبل والذى يرجع إلى استجابة سريعة وقوية لجينات دفاع خاصة . هذا الابداء يستخدم مكونات اشارية خاصة ويكون أقل تكلفة عن الدفاع المحفز المنشط ولو انه يقدم مقاومة متشابهة . على نفس المنوال فإن النباتات التى تعودت على هجوم آكلات النباتات يمكن أن تتحقق بواسطة هجوم آكل نبات أقل ضراوة ضد هجوم أنواع أكثر ضراوة من آكلات النباتات . مازلنا فى حاجة لتعلم الكثير عن الميكانيكيات التى بواسطتها تقوم النباتات وبسرعة بضبط الطرز الفينولوجية للبيئات التى تعيش فيها .

٥- المنظورية Perspectives

الدليل الرياضى لتكاليف الدفاع المحفز مازال مقلوباً رأساً على عقب كما يتطلب الأمر مزيد من البحوث المكثفة لاختبار المفاهيم المختلفة عن التكاليف وفوائد الدفاع المحفز . فهمنا للمركبات المحفزة ونظم التأشير ومسارات التمثيل المشاركة زادت بشكل كبير كما أن التقدم فى الطرق الجزيئية مكن من عزل الصفات كل على حدة وتتابعاتها للياقة الكائن تبعاً لقانون داروين وتقديرها . النموذج البسيط للدفاعات الداخلية المكلفة يتفق مع التعقيدات التى تضبط بها النباتات تمثيلها استجابة لهجوم آكلات النباتات ولغيرها من الاجهادات البيئية الأخرى . لذلك فإن البحث عن دليل بسيط للارتباطات السالبة بين مستوى الدفاع واللياقة ليس كافياً للاختبار الدقيق لتكاليف الدفاع الموجودة . التحليل فى حاجة للاجراء على مستويات مختلفة من خلال فحص ميكانيكيات التمثيل الجارية وتتابعاتها على أداء الكائن فى مدى من البيئات التى يميل النبات للتعود عليها فى الطبيعة . الوسائل الجزئية والتحليل المقنن فى مناطق النقل والتمثيل تقدم رؤى فى ضوابط التمثيل جنباً إلى جنب مع اقترابات المناورة مثل إخماد الجين ويصبح فى الإمكان فحص الارتباطات فى حزمة التمثيل المسئولة عن الطرز الفينولوجية . بالإضافة لذلك فإن التقدم

فى طرق التحليل سوف يسمح بتنقية الفرضيات حول المخرجات التى تحدث على مستوى الكائن الشامل . اقتراب التحول الجينى الخاص بتغيير صفة خاصة للدفاع سـوف يـسمح بتقدير الوظائف والمخرجات فيما بين الصفات تحت الظروف الطبيعية . الدراسات الكمية تناولت ميكانيكيات نشوء الاستجابات المحفزة .

References

Agrawal AA, Strauss SY, Stout MJ (1999) Costs of induced responses and tolerance to herbivory in male and female fitness components of wild radish. Evolution 53:1093-1104

Agren J, Schemske DW (1993) The cost of defense against herbivores: an experimental study of trichome production in *Brassica rapa*. Am Nat 141:338-350

Baldwin IT (1989) Mechanism of damage-induced alkaloid production in wild tobacco. J Chem Ecol 15:1661-1680

Cipollini DF (2002) Does competition magnify the fitness costs of induced responses in *Arabidopsis thaliana?* A manipulative approach. Oecologia 131:514-520

Dicke M, Sabelis MW (1992) Cost and benefits of chemical information conveyance: proximate and ultimate factors. In: Roitberg BD, Isman MB (eds) Insect chemical ecology. An evolutionary approach. Chapman and Hall, New York, pp 122-155

Feeny P (1976) Plant apparency and chemical defense. Recent Adv Phytochem 10:1-40

Glawe GA, Zavala JA, Kessler A, Van Dam NM, Baldwin IT (2003) Ecological costs and benefits correlated with trypsin protease inhibitor production in *Nicotiana attenuate*. Ecology 84:79-90

Halitschke R, Baldwin IT (2004) Jasmonates and related compounds in plant-insect interactions. J Plant Growth Regul 23:238-245

Karban R, Agrawal AA, Mangel M (1997) The benefits of induced defenses against herbivores. Ecology 78:1351-1355

Lerdau M, Litvak M, Monson R (1994) Plant chemical defense: monoterpenes and the growth-differentiation balance hypothesis. Trends Ecol Evol 9:58-61

McKey D (1974) Adaptive patterns in alkaloid physioliogy. Am Nat 108:305-320

Mitchell-Olds T, Schmitt J (2006) Genetic mechanisms and evolutionary significance of natural variation in *Arabidopsis*. Nature 441:947-952

Ohnmeiss TE, Baldwin IT (2000) Optimal defense theory predicts the ontogeny of an induced nicotine defense. Ecology 81:1765-1783

Plagnol V, Padhukasahasram B, Wall JD, Marjoram P, Nordborg M (2005) Relative influences of crossing-over and gene conversion on the pattern of linkage disequilibrium in *Arabidopsis thaliana*. Genetics 172:2441-2448

Redman AM, Cipollini DF, Schultz JC (2001) Fitness costs of jasmonic acid-induced defense in tomato, *Lycopersicon esculentum*. Oecologia 126:380-385

Simms EL, Rausher MD (1987) Costs and benefits of plant resistance to herbivory. Am Nat 130:570-581

Tian D, Traw MB, Chen JQ, Kreitman M, Bergelson J (2003) Fitness costs of R-gene mediated resistance in *Arabidopsis thatiana*. Nature 423:74-77

Van Dam NM, Baldwin IT (1998) Costs of jasmonate-induced responses in plants competing for limiting resources. Ecol Lett 1:30-33

Vrieling K, DeJong TJ, Klinkhamer PGL, Van der Meijden E, Van der Veenvan Wijk CAM (1996) Testing trade-offs among growth, regrowth and anti-herbivore defenses in *Senecio jacobaea*. Entomol Exp Appl 80:189-192

Wu J, Hettenhausen C, Meldau S, Baldwin IT (2007) Herbivory rapidly activates MAPK signaling in attacked and unattacked leaf regions but not between leaves of *Nicotiana attenuate*. Plant Cell 19:1096-1122

Zavala JA, Baldwin IT (2004) Fitness benefits of trypsin proteinase inhibitor expression in *Nicotiana attenuate* are greater than their costs when plants are attacked. BMC Ecol 4:11

Zangerl AR, Bazzaz FA (1992) Theory and pattern in plant defense allocation. In: Fritz RS, Simms EL (eds) Plant resistance to herbivores and pathogens. Ecology, evolution, and genetics. University of Chicago Press, Chicago, IL, pp 363-391

الباب الرابع

الدفاعات المحفزة المباشرة التشريحية Anatomical defenses

أولاً : تكوين الزوائد الشعرية على الأوراق ومقاومة النباتات لآكلات العشب

Peter Dalin , Jon Agren , Christer Bjorkman , Piritta Huttunen and Katri Karkkainen

شعيرات الأوراق تساهم فى تحقيق مقاومة النبات ضد آكلات الأوراق . فى العديد من الأنواع النباتية فإن كثافة الشعيرات فى الأوراق الجديدة تزداد بعد الضرر الذى تحدثه آكلات الأوراق . فى هذا المقام سوف نقوم باستعراض الأساس الوراثى لإنتاج الشعيرات " الترايكوم " والأهمية الوظيفية والتكيف لتكوين الشعيرات تركيبياً وتحفيزياً . سوف نركز على شعيرات الأوراق وإنتاجها استجابة للتلف من جراء هجوم آكلات النباتات . الأساس الوراثى لإنتاج الشعيرات درس ووصف بالتفصيل فى النوع النموذج Arabidopsis thaliana . أظهرت الدراسات الحديثة أن شبكات التشريح التى تحكم تطور الشعيرات تتفاوت وأن إنتاج الشعيرات تنشأ تكرارياً بين كاسيات البذور Angiosperms إنتاج الترايكوم المحفز وجد مرتبطاً بزيادة مستويات حمض الجسمونيك فى نبات ارابيدوبسيس مما يوضح وجود رابطة شائعة مع التغيرات الأخرى فى خصائص المقاومة . التلف من هجوم آكلات الأوراق فى الغالب يرتبط سلبياً بإنتاج الشعيرات وتحفيز إنتاج الشعيرات يعتبر ميزة حيث تزيد من المقاومة ضد آكلات الأوراق . هناك قليل من الدراسات توضح التكاليف والفوائد لإنتاج الشعيرات المحفز من ناحية لياقة النبات . كثافة الشعيرات تؤثر على التداخلات مع الحشرات آكلة الأوراق ولكنها قد تؤثر كذلك على وفرة وكفاءة المفترسات وأشباه الطفيليات التى تتغذى على آكلات النباتات وتحمل الإجهادات اللا حيوية .

P. Dalin

Marine Science Institute , University of California , Santa Barbara , CA 93106-6150 , USA .

e-mail : dalin@msi.ucb.eu

A. Schaller (ed.), Induced Plant Resistance to Herbivory , © Spring Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

التراكومات عبارة عن زوائد تشبه الشعر تتطور من الخلايا للبشرة الهوائية وتنتج بواسطة معظم الأنواع النباتية . ترايكومات الأوراق تستطيع تأدية وظائف متعددة تتضمن الحماية ضد الضرر الذى تحدثه آكلات الأوراق (Levin , 1973) . بينما أن معظم النباتات تنتج الترايكومات تكوينيا فإن بعض الأنواع تستجيب للضرر عن طريق زيادة كثافة الشعيرات فى الأوراق الجديدة . الهدف من هذا الاستعراض تناول العمليات التى تؤثر على تكوين الترايكوم وأهمية هذه الزوائد الشعيرية فى المقاومة النباتية ضد الآفة أو الآفات . سوف تركز أساساً على ترايكومات الأوراق وإنتاجها استجابة للتلف الذى تحدثه الحشرات آكلات الأوراق . سوف تكون البداية استعراض مختصر للفهم الجارى للأسس الوراثية لتكوين الترايكومات . بناء على الدراسات المرجعية والبيانات المتاحة سنقوم بتناول الزيادة فى الإنتاج المحفز للترايكومات وعلاقتها بكمية الضرر والأساس الهورمونى لإنتاج هذه الترايكومات المحفز بالضرر . بعد ذلك سنناقش تأثيرات الإنتاج المحفز للترايكومات على التداخلات مع الحشرات آكلة النباتات وأعدائها الطبيعية وكذلك على لياقة النبات . فى النهاية سوف نقوم بتعريف المشاكل ومدى الحاجة لدراسات إضافية لتحقيق فهم أفضل عن الوظائف والتكيف للإنتاج المحفز للترايكومات فى النباتات .

مورفولوجى (الشكل الخارجى) وكثافة الترايكومات تختلف وتتفاوت بشكل كبير بين الأنواع النباتية وقد تختلف كذلك بين المجاميع النباتية وفيما داخل النوع نفسه . تركيب الترايكومات يتراوح من خلية واحدة وحتى الخلايا العديدة كما أن الترايكومات قد تكون مستقيمة أو حلزونية أو خطافية أو متفرعة أو غير متفرعة . بعض الترايكومات لها غدد تطلق نواتج تمثيل ثانوية (مثل التربينات والالكالويدز) التى تكون سامة أو طاردة أو تصطاد الحشرات وغيرها من الكائنات الحية . يشار إلى هذه الترايكومات بالترايكومات الغدية (Duffey,1986) . فى بعض الأنواع فإن النباتات الفردية تنتج كلا الترايكومات الورقية الغدية وغير الغدية .

إنتاج الترايكوم مكون هام للمقاومة ضد الحشرات آكلة النباتات . التلف بسبب العديد من آكلات النباتات الحشرية يرتبط سلبياً بكثافة الشعيرات . الشكل غير الشعرى Glabrous لنبات ارابيدوبسيس المعمر يضار أكثر بواسطة الحشرات عن الشكل المنتج للترايكومات حيث أن إزالة ترايكومات الأوراق أدت إلى زيادة تغذية ونمو آكلات الأوراق من الحشرات فى العديد من الأنواع النباتية المختبرة . بالإضافة إلى ذلك فإن العديد من الأنواع النباتية تستجيب للتلف الذى تسببه آكلات الأوراق عن طريق إنتاج أوراق جديدة بها زيادة فى كثافة وأعداد الترايكومات (جدول ٤-١) والحشرات التى تتغذى على النباتات المحفزة فى الغالب تستهلك مجموع خضرى أقل وتنمو بدرجة أقل بالمقارنة

بالحشرات التى تتغذى على نباتات غير محفزة . لقد أظهرت هــذه الدراســات أن إنتــاج ترايكومات الأوراق تساهم فى الوقاية ضد الحشرات آكلة النباتات .

ترايكومات الأوراق قد تزيد المقاومة للاجهادات اللا حيوية هذه الترايكومات قد تزيد من تحمل الجفاف عن طريق خفض امتصاص أشعة الشمس وزيادة طبقة حد سطح الورقة وبواسطة تسهيل تكثيف رطوبة الهواء على سطح النبات . الترايكومات قد تحمى كــذلك الخلايا الحية من الضرر المتسبب بواسطة الأشعة فوق البنفسجية من الشمس ومن درجات الحرارة المنخفضة . هذا يعنى أن الترايكومات لها وظائف متعددة وأن كثافة الترايكومات قد تشترك فى الاستجابة للتغيرات فى العديد من العوامل البيئية . بوجه عام فإن النباتــات ذات الكثافة العالية من الترايكومات يتوقع وجودها فى البيئات الجافة أو الباردة حيث تكون الأشعة فوق البنفسجية كثيفة وفى المناطق التى تكون فيها مخاطر التلف بواسطة الحشرات آكلة الأوراق عالية .

جدول (٤-١) : الزيادة المحفزة فى كثافة الترايكوم المسجلة بعد الجرح الصناعى والتلف بواسطة الحشرات آكلة النباتات

الأنواع النباتية	معاملة التساقط			تلف النسيج	زيادة كثافة الترايكوم.		المراجع
	التلف	البيئة	الكمية		الكمية	التوقيت	
Plant Species (life history)1	**Defoliation treatment**				**Increase in trichome density**		
	Damage	Environment	Amount	Tissue damaged	Magnitude	Timing	Reference
Arabidopsis thaliana (a)	Artifical	Lab	Pinching	Leaves	25%-117%	Week	Traw and Bergelson (2003)
Alnus incana (P)	Coleoptera	Field	30%-100%	Leaves	500%	2%-4 Weeks	Baur et al. (1991)
Brassica nigra (a)	Lepidoptera	Lab	25%	Leaves	76%	Week	Traw and Dawson (2002a)
Brassica nigra (a)	Lepidoptera	Lab	25%	Leaves	113%	Week	Traw and Dawson (2002a)
Brassica nigra (a)	Coleoptera	Lab	17%	Leaves	No induction	Weeks	Traw and Dawson (2002a)

تابع جدول (٤-١) : الزيادة المحفزة فى كثافة الترايكوم المسجلة بعد الجرح الصناعى والتلف بواسطة الحشرات آكلة النباتات

الأنواع النباتية	معاملة التساقط			تلف النسيج	زيادة كثافة الترايكوم		المراجع
	التلف	البيئة	الكمية		الكمية	التوقيت	
Brassica nigra (a)	Lepidoptera	Lab	25%	Leaves	43%	4%-5 weeks	Traw and Dawson (2002a)
Brassica nigra (a)	Coleoptera	Lab	25%	Leaves	No induction	4%-5 weeks	Traw and Dawson (2002a)
Brassica nigra (a)	Lepidoptera	Lab	25%	Leaves	38%	2%-3 weeks	Traw 2002
Betula pubescenns (P)	Artificial	Field	50%	Leaves	300%	2%-7 Weeks 1998	Rautio et al, (2002)
Betula pubescenns (P)	Artificial	Field	100%	Leaves	1000%	2%-7 Weeks 1998	Rautio et al, (2002)
Betula pubescenns (P)	Artificial	Field	50%	Leaves	No induction	2%-7 Weeks 1999	Rautio et al, (2002)
Betula pubescenns (P)	Artificial	Field	100%	Leaves	No induction	2%-7 Weeks 1999	Rautio et al, (2002)
Betula pubescenns (P)	Artificial	Field	< 25%	Leaves	10%-20%	Next year	Valkama et al. (2005)
Betula pubescenns (P)	Artificial	Field	10 cm	Shoots	No induction	Next year	Valkama et al. (2005)
Cnidoscolus texanus (P)	Livestock	Field	No info	Shoots	38%	No info	Pollard (1986)
Lepiduum virginicum (a)	Lepidoptera	Lab	20%-25%	Leaves	60%	2 weeks	Agrawal (2000)
Rophanus rophanistrum (a)	Lepidoptera	Lab	50%	Leaves	25%-100%	3 weeks	Agrawal (1999)

تابع جدول (٤-١) : الزيادة المحفزة فى كثافة الترايكوم المسجلة بعد الجرح الـصناعى والتلف بواسطة الحشرات آكلة النباتات							
الأنواع النباتية	معاملة التساقط			تلف النسيج	زيادة كثافة الترايكوم		المراجع
	التلف	البيئة	الكمية		الكمية	التوقيت	
Salix borealis (P)	Coleoptera	Field	100%	Leaves	51%-300%	Next year	Zvereva et al. (1998)
Salix cinerea (P)	Coleoptera	Lab	5%	Leaves	72%	3 weeks	Dalin and Bjorkman (2003)
Salix cinerea (P)	Artificial	Lab	5%	Leaves	No induction	3 weeks	Dalin and Bjorkman (2003)
Salix cinerea (P)	Coleoptera	Lab	10%	Leaves	93%	3 weeks	Dalin and Bjorkman (2005)
Salix cinerea (P)	Coleoptera	Lab	3%	Leaves	83%-186%	3 weeks	Dalin and Bjorkman (2008)
Salix viminalis (P)	Coleoptera	Lab	5%-25%	Leaves	13%	3 weeks	Dalin et al .(2004)
Urtica dioica (P)	Atrificial	Field	> 50%	Shoots	140%-790%	10 weeks	Pullin and Gilbert (1989)
Urtica dioica (P)	Atrificial	Lab	> 50%	Shoots	23%-106%	10 weeks	Pullin and Gilbert (1989)
Urtica dioica dioica (P)	Atrificial	Lab	50%	Leaves	26%	5-7 Weeks	Mutikainen and Walls (1995)
Urtica dioica dioica (P)	Atrificial	Lab	No info	Apical buds	Non induction	5-7 Weeks	Mutikainen and Walls (1995)
Urtica dioica sondenii (P)	Atrificial	Lab	50%	Leaves	Non induction	5-7 Weeks	Mutikainen and Walls (1995)
Urtica dioica sondenii (P)	Atrificial	Lab	No info	Apical buds	50%	5-7 Weeks	Mutikainen and Walls (1995)

1The life history of the different plant species is indicated as (P) for perennial , or (a) for annual .

٢- تكوين ترايكوما الورقة Leaf Trichome Formation

٢-١- الأساس الجزيئى لتكوين ترايكوم الأوراق

الترايكومات تنشأ فى بشرة الأوراق النامية : بعض خلايا البشرة تنمو فى خلايا الترايكوم حيث الخلايا المحيطة تنمو فى خلايا البشرة المنتظمة . الفهم الحالى لتكوين الترايكوم مبنى على دراسات نماذج أنواع قليلة . بوجه خاص فإن تكوين الترايكوم فى نباتات أرابيدوبسيس ثاليانا قد استخدم كنموذج لدراسة الميكانيكيات التطورية والخلوية فى النباتات . فى نبات الأرابيدوبسيس تكون الترايكومات غير غدية وخلايا مفردة كبيرة تحاط بخلايا بشرة مساعدة على الأوراق الوردية والسيقان وأوراق الساق والسبلات . مع دراسة الطفرية توجد دستات من الجينات تشترك فى إنشاء الترايكوم والفراغات والشكل تم تعريفها فى الأرابيدوبسيس . الدراسات الحديثة على هذا النبات وأقرانه أوضحت أن التباين فى بعض الجينات نفسها مكن أن تفسر الاختلافات فى تكوين الترايكوم فى المجاميع الطبيعية .

الدراسات على الأساس الوراثى لإنشاء الترايكوم عرفت الجينات التى :

أ – تتحكم فى الدخول فى مسار الترايكوم .

ب- التحكم فى مسافات أو فراغات الحوادث الإنشائية .

الفقد فى الطفرات الوظيفية فى نباتات الأرابيدوبسيس أدى إلى الاقتراح بأن الجينات GIABROUS I (GLI) و TRANSPARENT TESTA GIABRAI وتختصر (TTGI) هامة للإنشاء ومسافات ترايكومات الأوراق . GLI يشفر نسخ العامل Myb – transcription والتى يعبر عنها انتشاريا فى الأوراق النامية . TTGI يعبر عنها فى معظم الأعضاء النباتية الكبرى ويشفر للبروتين المحتوى على 40 – WD المكرر وهو مطلوب لإنشاء خلايا الترايكوم فى الأوراق وتكوين الخلايا عديمة الشعر (Atrichoblast) فى الجذور وتخليق الأنثوسيانين فى الأوراق وتكوين فيلم من طبقة هلامية Mucilage فى البذور النامية . فى النشأة العادية للترايكوم فإن الجينات GIABROUS 3 (Gl3) و HANCER OF GIARRA 3 (EG13) والتى تشفر بروتينات Helix – loop – helix (bHLH) مطلوبة كذلك . الجينات GL1 و TTG1 ذات مقدرة للنشأة العادية للترايكوم جنباً لى جنب مع الجينات الأخرى مثل CRPRICE (CPC) و (TRY) TRIPTYCHNO المعروف أنها تحفز دور الخلايا الشعرية للجذر . الجين GLABROU 2 GL2 ينظم بشكل كمى تكرارية نشوء الترايكوم ويشترك فى تحديد المسافات بين الشعيرات وتطور شعيرات الجذور ولكنه يشترك كذلك فى السيطرة

والتحكم على تراكم الزيت فى البذور . لذلك فإن العديد من الجينات التى تشترك فى نشوء الترايكوم والمسافات بينها تنظم كذلك صفات فينولوجية هامة أخرى والتى قد تتحدى نشوء الجينات والصفات .

ولو أن الفهم الجارى للأساس الجينى لنشوء الترايكوم وتحديد المسافة بين الشعيرات تعتمد لحد كبير على دراسات الطفرية فى نبات الأرابيدوبسيس فإن بعض المعلومات متاحة كذلك لأنواع نباتية أخرى . نشوء الترايكوما فى القطن يبدو أنه نظم بواسطة معقد Multimeric مشابه بين MYB , bHLR وبروتينات WD المكررة كما فى نبات الأرابيدوبسيس . مقارنات التتابع والتحليل الوظيفى أدى إلى الاقتراح بأن الجينات المسئولة عن تكوين الترايكوما فى هذا النبات (وربما فى القطن) قد تنشأ من تضاعف وإعادة وظيفية الجينات المشاركة فى إنتاج الأنثوثيانين والفلافينويدز بينما الجينات المشتركة فى تكوين قرائن الترايكومات متعددة الخلايا فى نبات نيكوتينيا وأنتريهينيوم ذات أصول مختلفة . لذلك فإن إنتاج الترايكوم يبدو أنها تنشأ مرات عديدة مما أدى إلى الاقتراح بأنه يحدث نشوء متقارب Convergent .

٢-٢- الأساس الوراثى للتباين الطبيعى فى إنتاج الترايكوم

كلا إنتاج الترايكوم كما فى (إنتاج الترايكوم فى مقابل عدم وجود الشعر) ونوع الترايكومات الناتجة (الغدية فى مقابل غير الغدية) قد تختلف داخل النوع النباتى . العديد من الأنواع النباتية عديدة التشكل Polymorphic لإنتاج الترايكوم مع الأشكال المنتجة للترايكوم والأشكال العادية بدون شعر . فى العديد من الأنواع فإن تكرارية إنتاج الترايكوم تتفاوت أشكالها جغرافياً فيما بين وداخل أماكن الوجود . أظهر التحليل الوراثى أن وراثية الشكل العادى بسيطة فى العديد من الأنواع (جين واحد مع الليلات متنحية للعرى أو عدم وجود الشعيرات . فى نباتات A. Lyrata أظهر التحليل الارتباطى للتباين الفينولوجى والتباين الوراثى فى الجينات المتقابلة أن التشكل المتعدد فى إنتاج الترايكوم تسبب بواسطة التباين فى الجين GLABROUSI وتحليل التتابع أدى إلى الاقتراح بأن الطفرات المستقلة العديدة فى نفس الجين تسبب العرى فى المجاميع الطبيعية المختلفة لنباتات A.thaliana , A. lyrata . التشكل المتعدد فى مورفولوجى الترايكوم (الترايكومات العذبة فى مقابل غير العذبة) يمكن أن تورث تبعاً لطرز مندل البسيط كما سجل مع Datura Wrightii .

عدد الترايكومات الناتجة وكثافة الترايكوم تختلف وراثياً داخل الأنواع العديدة . الدراسات الوراثية الكمية أظهرت تباين وراثى وفير فى عدد الترايكوم وكثافتها . الدراسات الكمية QTL أجريت لمعرفة الأساس الوراثى بين اختلافات المجموع فى تكوين الترايكوم. فى نباتات أرابيدوبسيس ثاليانا التحليل الكمى QTL للعبور بين مدخلين يعرفا QTL الأكبر لعدد الترايكوم (عدد الترايكوم الناقص RTN) الذى يفسر ٧٠% من

التباين فى عدد الترايكومات الناتجة . الدراسات الحادثة عن العبور بين مدخلات أخرى لنباتات الارابيدوبسيس كشفت عن QTL إضافية (مع بعضها ٩ من QTL فى أربعة عبورات مختلفة معظمها كانت مشاركة بين المجاميع . النتائج الأولية من العبورات مع QTL وفى داخل المجموع فى نباتات A.Lyrata أدت إلى الاقتراح بأن عدد محدود من الشواهد تساهم فى حدوث التباين فى عدد الترايكومات الناتجة وأن بعض الجينات تنعزل فى العديد من المجاميع فى هذا النوع النباتى .

٣- الإنتاج المحفز للترايكوم Induced trichome production

٣-١- إنتاج الترايكوم المحفز بالتلف Damage induced

كلا الجرح الصناعى والتلف الذى تحدثه آكلات الأوراق تعمل على تحفيز الزيادة فى كثافة الترايكوم وتحفيز إنتاج الترايكوم وهذا ما لوحظ فى كلا النباتات الحولية والمعمرة (جدول ٤-١) . الكمية التى أعلنت عن الزيادة فى كثافة الترايكوم وجدت تتراوح من ٢٥% وحتى ١٠٠% ولكن فى بعض الحالات تكون أكبر وحتى ٥٠٠% إلى ١٠٠٠% (جدول ٤-١) . الاستجابات تتضمن فى الغالب التغيرات فى كثافة الترايكوم الذى يعبر عنه خلال أيام أو أسابيع . فى بعض الأشجار الخشبية المعمرة تكون الاستجابة متأخرة ولا تلاحظ حتى السنة التى تلى الهجوم الأول . التلف يمكن أن يحفز كذلك التغير فى النسب النسبية للترايكومات الغدية وغير الغدية (Rautio et al. 2002) .

الإجهاد اللا حيوى مثل الجفاف والتعرض للأشعة فوق البنفسجية UV قد تؤثر على تكوين الترايكوم كما أن الظروف اللا حيوية قد تحور الاستجابات المحفزة بالتلف فى كثافة الترايكوم . كمثال أوضح Bjorkman et al. (2008) أن الزيادة فى إنتاج الترايكوم المحفز بواسطة خنفساء الورق الآكلة للنباتات فى نبات الصفصاف تكون أقوى فى الظل عنه تحت التعرض لضوء الشمس المباشر مما أدى إلى الاقتراح بأن النباتات تستثمر مصادر أكثر فى الدفاع بالترايكوم عندما تنمو فى الظل . جميع الدراسات الخمسة والتى حدثت بها زيادة فى ترايكومات الأوراق بأكثر من ٢٠٠% بعد الضرر أجريت فى الحقل . ولو أن البيانات الرياضية مازالت قليلة فإنه مازالت هناك حاجة لدراسات إضافية عن كيفية تأثير الظروف اللا حيوية على الاستجابات المحفزة بالضرر فى تكوين الترايكوم .

لم يلاحظ أن التلف يحفز تكوين الترايكوم فى جميع الدراسات (جدول ٤-١) . تصف الدراسات المستقلة الخمسة عشر الموجودة فى الجدول والتى فيها أجريت عمل جروح صناعية بغرض التجريب (مثل تشويه الأوراق Clipping) أشارت إلى حدوث زيادة كثافة الترايكوم . بالإضافة إلى ذلك فإن تأشير التلف على إنتاج الترايكوم قد تختلف اعتماداً على نوع أكل الأوراق وليس كل الحشرات آكلة العشب تحفز التغير فى تكوين الترايكوم . الجروح الصناعية تختلف عن التلف الذى يحدث من تغذية الحشرات من عديد

من النواحي والتي قد تقلل من فرص الكشف عن الاستجابات المحفزة . بالإضافة إلى ذلك فإن نظم تغذية الحشرات تتفاوت خاصة فيما بين نظم التغذية (مثل القارضات وصانعات الأنفاق والثاقبات) والتي قد تؤثر على كيفية استجابة النباتات للتلف . مازالت هناك حاجة لمزيد من الدراسات لفحص الدرجة التي عندها تتفاوت الاستجابات مع نوع الضرر وما إذا كانت النباتات تستفيد من الاستجابة بشكل مختلف للأنواع المختلفة من الضرر أو التلف.

٣-٢- التنظيم الهورموني للإنتاج المحفز للترايكوم

أظهرت الدراسات الحيوية على نبات الأرابيدوبسيس أن العديد من شبكات التنظيم قد تؤثر على الزيادة فى إنتاج الترايكوم المحفز بالضرر . حمض الجسمونيك ينظم التعبير الجهازى للدفاعات الكيميائية والضرر بواسطة آكلة العشب وكذلك الجروح الصناعية تسبب زيادة سريعة فى حمض الجسمونيك . فى نبات الأرابيدوبسيس ثاليانا التالف صناعياً ولكن مع استخدام حمض الجسمونيك والجبريللين تزيد من إنتاج الترايكوم فى الأوراق الجديدة . من جهة أخرى فإن استخدام حمض السلسليك يقلل من إنتاج الترايكوم ويثبط الاستجابة لحمض الجسمونيك والتى تتوافق مع اللغة العبورية السالبة بين المسارات التى تعتمد على الجسمونات والساليسيلات فى نبات الارابيدوبسيس . تركيز حمض السالسيليك يزيد بشكل تقليدى استجابة للإصابة بالممرضات حيوية التغذية ولكنها قد تزيد كذلك استجابة للضرر الذى يتسبب بواسطة بعض آكلات العشب . هذا أدى إلى الاقتراح بأن تحفيز الزيادة فى إنتاج الترايكوم يتأثر بواسطة التداخلات مع كلا آكلات العشب والممرضات وهو يختلف اعتماداً على كثافة آكلات الأعشاب .

٤- ترايكومات الأوراق ومقاومة النبات

٤-١- التأثيرات على سلوك وأداء آكل العشب

الترايكومات تؤثر على تبويض الحشرات و / أو التغذية فى مدى عريض من الحشرات وآكلات العشب الأخرى (Levin , 1973) . الترايكومات غير الغدية تعمل أساساً كوسيلة دفاع تركيبية ضد آكلات العشب الصغيرة . الترايكومات تتداخل مع حركة الحشرات ومفصليات الأرجل الصغيرة على سطح النبات وتجعله أكثر صعوبة على الحشرات لجعل بشرة الورقة لتحت التغذية (Southwood , 1986) . فى الغالب تتكون الترايكومات من السليلوز ومواد أخرى تكون قيمة غذائية منخفضة للحشرات . الحشرات التى تحتاج للتغذية خلال الترايكومات قبل نماء بشرة الورقة يجب أن تكتسب وزن قليل وفى النهاية يزداد الموت . الترايكومات الغدية يمكن أن ينظر لها على أنها خليط من وسائل الدفاع التركيبية والكيميائية . هذا بسبب أن الترايكومات الغدية تطلق نواتج تمثيل ثانوية قد تكون سامة أو طاردة للكائنات آكلة العشب . الترايكومات اللاسعة مثل تلك التى

تنتج بواسطة نبات القراص (Urtica dioica (nettle قد يطرد حتى آكلات الأعشاب الكبيرة.

وجود وكثافة ترايكومات الأوراق تؤثر على كلا السلوك الاختيارى للعائل والنبات وكذلك الأداء (مثل النمو والبقائية والخصوبة) للحشرات آكلات النباتات ولكنها تعتبر كوسيلة خفيفة أو كسلاح خفيف Soft weapon بالمقارنة بالعديد من الصفات الأخرى القاتلة للحشرات . لقد ظهر نقد مفاده أن صفات الدفاع الضعيفة قد تؤثر على مدى عريض من الحشرات آكلات الأوراق لأنها أقل ميلاً للظهور مع التأقلم فى الحشرات . كمثال يوجد عدد من الدراسات تقترح أن ترايكومات الأوراق تخفض من تغذية كلا الحشرات العامة والخاصة . لقد أوضح الباحث Agrawal عام (١٩٩٩) أن نوعين من حرشفية الأجنحة واحدة خاصة والأخرى عامة كلاهما تأثرتا سلبياً بواسطة التلف السابق على نباتات اللفت البرى الذى كان مرتبطاً بزيادة كثافة وعدد الترايكومات على الأوراق . لقد أوضح Agrawal (٢٠٠٤) أن العديد من نظم تغذية الحشرات القارضة وصانعة أنفاق الأوراق تأثرت سلبياً بواسطة زيادة كثافة ترايكومات أوراق حشيشة اللبن . لذلك فإن الترايكومات غير الغدية قد تؤثر على التغذية بواسطة مدى عريض من الحشرات ومن ثم تخفض الضرر الكلى التى يتسبب بواسطة آكلات الأوراق .

الحشرات قد تنشيء صفات فسيولوجية وسلوكية تسمح لها بالتوافق مع دفاعات النبات التركيبية . كمثال العديد من حشرات البق (Miridae) ذات تراكيب خاصة على أرجلها تسهل لها الحركة بعد السطوح النباتية المغطاة بالترايكوم . خنفساء الأوراق Phratora vudgatissima لوحظ أنها تزيل الترايكومات غير الغدية عندما تتغذى على الأوراق لنبات الصفصاف S.Viminalis لم يلاحظ هذا السلوك عندما تغذت نفس الحشرة على الصفصاف S.cinerea الذى ينتج ترايكومات أقصر وأعرض مما يظهر صعوبة أكثر على اليرقات للتعامل معها أو لتداولها . نشوء أجزاء فم قوية بما فيه الكفاية للتعامل مع وسائل الدفاع النباتية التركيبية تعتبر أحد الميكانيكيات التى تستغلها الحشرات كما هو الحال مع ترايكومات الأوراق .

٤-٢- التأثيرات على التداخلات ثلاثية التغذية

ترايكومات الورقة لا تؤثر على آكلات العشب فقط ولكنها تؤثر كذلك على أعدائها الطبيعية . من الناحية النظرية فإن التأثير على وفرة وفعالية الأعداء الطبيعية قد تكون متعادلة (لا تأثير) سالب أو موجب (الشكل ٤-١) . إذا افترضنا أن آكلات العشب تتأثر سالبياً بواسطة ترايكومات الورقة النباتية (الباراجراف العلوى فى الشكل ٤-١) فإن التأثير المتعادل على المستوى الغذائى الثالث سوف يؤدى إلى وجود أعداء طبيعية ذات تأثير إضافى على تلف النبات الذى يتسبب بواسطة آكلات العشب ولياقة النبات .

التأثير السالب على المستوى الغذائى الثالث سوف يعمل تضاديا . اعتماداً على الشدة النسبية للتأثيرات السالبة لترايكومات الورقة على آكلات العشب والأعداء الطبيعية فإن الارتباط بين كثافة الترايكوم والتلف قد يتفاوت بين السالب والموجب . تلف النبات قد يكون :

١- مرتبط سالبياً مع كثافة الترايكوم إذا كان التأثير على الأعداء الطبيعية أضعف من ذلك الذى يحدث على آكلات العشب (الخط المنقط) .

٢- لا يرتبط مع كثافة الترايكوم إذا كان التأثير على الأعداء الطبيعية وآكلات العشب متوازنة (الخط الصلب) .

٣- يرتبط إيجابياً مع كثافة الترايكوم إذا كان التأثير على الأعداء الطبيعية أقوى من التأثير على آكلات العشب (خط مشرط) .

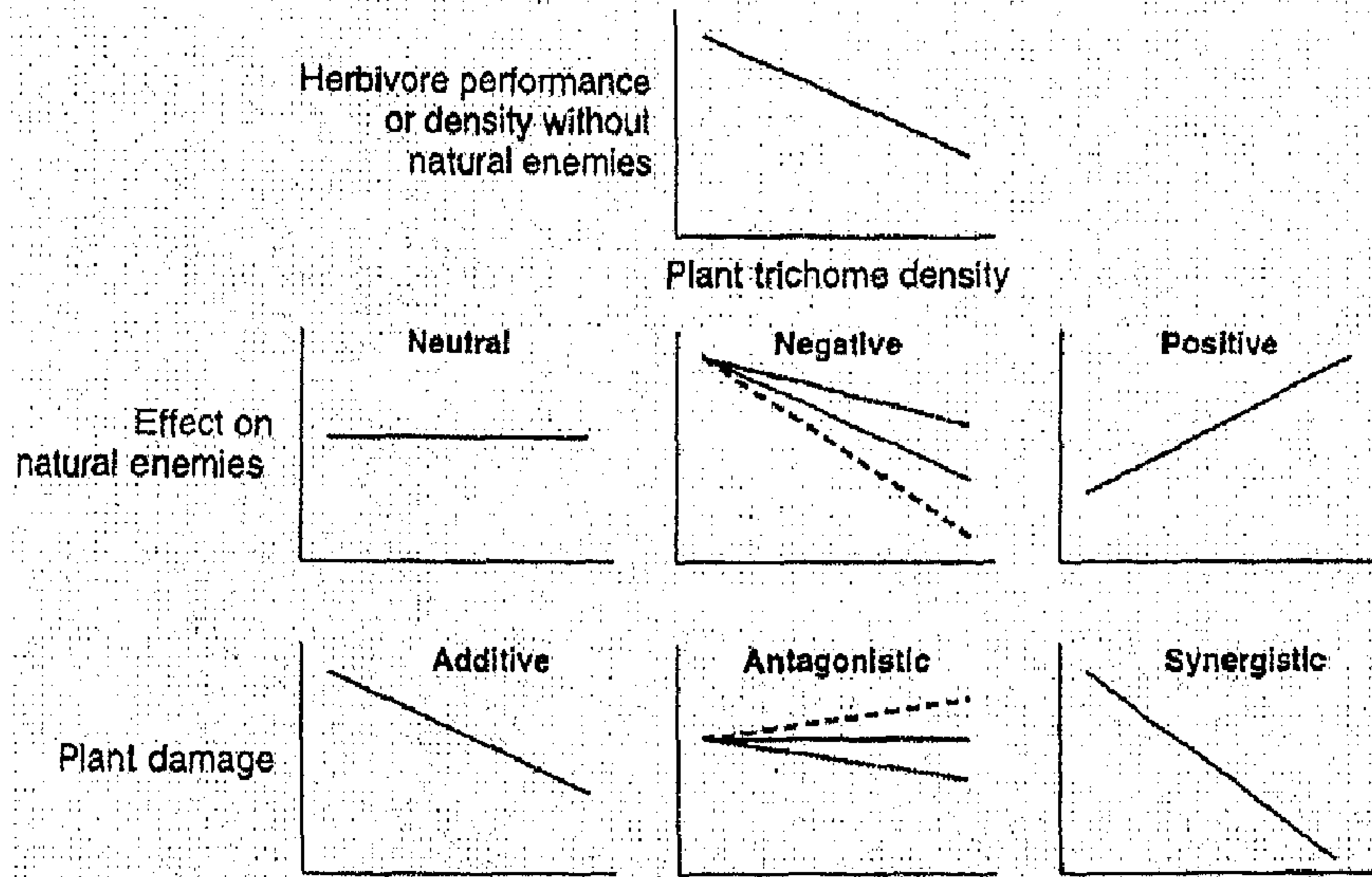
التأثير الموجب لترايكومات الأوراق النباتية على المستوى الغذائى الثالث يجب أن يؤدى إلى تأثير تنشيطى موجب على لياقة النبات . من منظور وقاية النبات هذا السيناريو الأخير قد يكون أكثر طلب ولكن لا يوجد إلا القليل من هذه الأمثلة .

فى معظم الدراسات التجريبية وجد أن وفرة وفعالية الأعداء الطبيعية ترتبط سالبياً مع كثافة ترايكومات النبات . فاعلية وكفاءة كلا المفترسات (٩ من ١٣ دراسة مرجعية) وأشباه الطفيليات (١٢ من ١٤ دراسة مرجعية) تأثرت سالبياً بسبب حدوث تثبيط للحركة وإطالة فترة البحث . كلا ترايكومات النبات الغدية وغير الغدية تستطيع إحداث هذه التأثيرات . الترايكومات الغدية بالإضافة إلى ذلك تؤثر على الأعداء الطبيعية سالبياً بواسطة :

أ – إطلاق مركبات طاردة أو سامة .

ب- تكون لاصقة وتحجب التحركات .

هذا ولو أن تأثير المواد اللاصقة الناتجة بواسطة الترايكومات الغدية قد تكون أقل أهمية فى بعض الأحيان فى الحقل حيث يكون التأثير اللاصق لإخراجات الترايكوم تتأثر سالبياً بواسطة الأتربة والرياح والمطر .



شكل (٤-١) : تمثيل بيانى مبسط عن كيفية تأثير كثافة ترايكوم الورقة علـى وفـرة أو فاعلية المفترسات وأشباه الطفيليات من آكلات العشب والتى قد تؤثر على العلاقة بين كثافة الترايكوم وتلف النبات الذى يتسبب بواسطة آكلات العشب (الخط الأسفل من الرسم) . الأعداء الطبيعية قد لا تتأثر أو قد تتأثر سالبياً أو إيجابياً بواسطة كثافة ترايكوم النبات (الخط الأوسط من الرسم) . الفرضية الأساسية تتمثل فى أن كثافة ترايكوم النبات تؤثر سلبياً على أداء أكل العشب أو الكثافة (الجزء العلوى) مثل أن الترايكومات ذات تأثير بأن تعمل كصفة فى المقاومة النباتية (Hare , 1992) .

فى حالات قليلة وجد أن وفرة وكفاءة الأعداء الطبيعية ترتبط إيجابيا بكثافة ترايكومات النبات . كمثال فإن الباحث Styrsky وآخرون (٢٠٠٦) أشار حديثا أن افتراس النمل النارى لآكلات العشب على فول الصويا كان أعلى على خطوط صنف فول الصويا ذات الكثافة العالية للترايكوم . الميكانيكية المقترحة كانت تتمثل فى الاستجابة الوظيفية بواسطة النمل للوفرة العالية للديدان على النباتات الزغبية Pubescent . أشجار التفاح التى تنتج كثافة عالية من الترايكومات فيها وفرة عالية من الأكاروس المفترس عن أشجار التفاح ذات الكثافة المنخفضة من الترايكومات . لقد اقترح أن هذا يحدث بسبب أن النباتات الزغبية تصطاد حبوب لقاح وجراثيم فطرية أكثر والتى تعمل كغذاء بديل للمفترسات (Roda et al., 2003) . لقد أوضح الباحثان Lucas and Brodeur (1999) أنه بين نباتات البطاطس فإن الحشرة ملتهمة المنّ كانت أكثر وفرة على الأوراق ذات الكثافة العالية من الترايكوم . لقد اقترح الباحثان أن نقص خطورة الافتراس ما بين النظام الغذائى بواسطة مفترسات أبى العيد والكثافة العالية للطعام (المنّ) على الأوراق ذات الكثافة العالية من الترايكوم قد تساهم فى هذا النظام . فى النهاية فإن إخراجات ترايكوم الورقة قد يعمل كرحيق لشبيه طفيل البيض Scelonid لبق الكوسة . الإناث

البالغة لشبيه الطفيل تعيش طويلاً عندما تكون يتوفر لها أوراق الكوسة عما هــو الحــال عندما يقدم لها ماء فقط وهذا يزيد فى حالة ما يكون الدوام كافياً بما يسمح بحدوث التكاثر والخصوبة للحد الأقصى.

فى حالات قليلة وجد أن وفرة وكفاءة أشباه الطفيليات والمفترسات لا ترتبط بكثافــة ترايكومات الأوراق وقد يكون ذلك بسبب رفض تسجيل البيانات السالبة .

كثافة الضحية أو العوائل قد تؤثر على دور الترايكومات على المفترســات وأشــباه الطفيليات ولكن يبدو أن العلاقة متخصصة النظام . فى بعــض الدراســات كــان تــأثير الترايكومات على الأعداء الطبيعية واضحاً فقط عند الكثافات العالية من الضحية / العائل بينما فى دراسات أخرى لوحظ هذا التأثير فى حالة الكثافات المنخفضة فقط .

٤-٣- الدور المؤثر للتكيف للإنتاج المحفز للترايكوم فى النباتات

الدور المؤثر للضرر المحفز الزيادة فى إنتاج الترايكوم يعتمد على الفوائد والتكاليف المرتبطة مع هذا التغير فى الطرز الفينولوجية . النباتات التى تحفز لزيادة ترايكوم الورقة فى الغالب تعانى من تلف أقل بواسطة الحشرات عن النباتات غير المحفزة . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح أن النباتات يجب أن تستفيد من الإنتاج المحفز للترايكوم طالما كانت تكاليف اللياقة المرتبطة بزيادة إنتاج الترايكوم لا تزيد عن الفوائد من خفض الضرر . لقد أوضح Agrawal (1999) أن نباتات الفجل البرى المحفزة تعانى من ضرر أقل بواسطة أنــواع الحشرات وتنتج بذور وثمار أكثر عن النباتات غير المحفزة . اللفت البرى يستجيب لآكل العشب بواسطة إنتاج أوراق جديدة مع زيادة كثافة الترايكوم ولكن مع زيادة جهازية كذلك فى تركيزات نواتج التمثيل الثانوية : لذلك فإنه ولو أن هذه الدراسة أظهرت بوضــوح أن النباتات تستفيد من الاستجابات المحفزة ومن ثم تكون هناك حاجة لدراسات لاحقة لتمييــز تأثيرات زيادة إنتاج الترايكوم على اللياقة عن تلك الاختلافات المحفزة فى جودة النبات فى هذا النوع والأنواع الأخرى .

بعيداً عن خفض الضرر الشامل فإن الإنتاج المحفز للترايكوم قد يحول التلف بعيــداً من الأجزاء الأكثر قيمة من النبات ويجعل الحشرات تتغذى على أجزاء أخــرى وأوراق أقل قيمة أو نباتات مجاورة غير محفزة . بسبب أن النباتــات لا تــستطيع تغييــر كثافــة الترايكومات على الأوراق الموجودة فعلاً فإن الزيادة المحفزة فى إنتاج الترايكوم تعبر عن نفسها فقط فى الأوراق التى تظهر خلال أو بعد الهجوم . الزيــادة المحفــزة فــى إنتــاج الترايكوم قد تحدث بسرعة نسبياً وتعبر عن نفسها فى الأوراق الجديدة خلال أيام أو أسابيع من الهجوم الأول . على نفس المنوال فإن الخفض السريع فى إنتاج الترايكوم فى الأوراق الجديدة عندما يتوقف الضرر يوضح أن الترايكوم هى التى تنتج . هناك دليل إضافى عن

تكاليف إنتاج الترايكوم تأتى من الأمثلة الخاصة بالعلاقة بين كثافة الترايكـوم والـصفات الدفاعية كما فى الأشواك . التلف مع الزيادة المحفزة فى إنتاج الترايكوم تؤدى إلى تبـاين فى كثافة الترايكوم فى النباتات ذات الأوراق المسنة والقاعدية والتى تكون فيها الترايكـوم أقل كثافة عن النباتات الصغيرة ذات الأوراق القمية المحفزة . أظهرت يرقـات خنفـساء الأوراق P.Vulgatissima سلوك غذائى أكثر انتشاراً بين أوراق الصفصاف ذات الكثافة العالية من الترايكومات عند قمة الأشطاء مما يوضح أن الحشرات كانت تبحث عن غـذاء أكثر ملائمة بين الفروع . هذا التلف المحفز بين الفروع المتفاوتة فى كثافة الترايكوم قـد تعكس تحديات فى التطور ولكنها قد تمثل ميزة كذلك حيث أن التلف لـلأوراق القاعـدة المسنة يكون أقل ضرراً على لياقة النبات عما هو الحال مع التلـف الـذى يحـدث فـى الأوراق القمية الصغيرة (Feeny,1976) .

٥- المنظورية Perspectives

العديد من الأنواع النباتية تستجيب لآكلات الأوراق عن طريق إنتاج أوراق بها كثافة وأعداء عالية من الترايكومات . الفائدة الواضحة لهذه الاستجابة تتمثل فى خفض أى تلف لاحق عن طريق جعل الأوراق أكثر صعوبة لتغذية الحشرات عليها . هذا ولو أن كميـة الإنتاج المحفز للترايكوم قد تختلف تبعاً لظروف المعيشة وأن زيادة كثافة الترايكـوم قـد تؤثر على المفترسات وأشباه الطفيليات سالبياً وهذا يقلل من تأثير تلف الأوراق . بالإضافة إلى ذلك فإن إنتاج الترايكوم قد يؤثر كذلك على تحمل الجفاف وغيره من الاجهادات غير الحيوية . تأثيرات الإنتاج المحفز للترايكوم على التداخلات مع آكلات العـشب يجـب إلا تفحص بشكل منعزل ولكن يجب أن تؤخذ فى الاعتبار مـن منظـور التـأثيرات علـى التداخلات ثلاثية التغذية والدرجة التى عندها تتفاوت تكاليف اللياقة والفوائد مع الظـروف اللا حيوية فى العشائر الطبيعية . كذلك مطلوب مزيد من المعلومات عن الأساس الوراثى والهورمونى للإنتاج المحفز للترايكوم . هذه المعلوماتية ذات أهمية فـى تطـوير طـرق مكافحة مستدامة للآفات باستخدام الاستجابات النباتية المحفزة كوسيلة لمنع التلـف الـذى تحدثه الحشرات فى النظم الزراعية .

References

Agrawal AA (1999) Induced responses to herbivory in wild radish : effects on several herbivores and plant fitness . Ecology 80 : 1713 – 1723 ،

Agrawal AA (2000) Specificity of induced resistance in wild radish : causes and consequences for two specialist and two generalist caterpillars . Oikos 89: 493 – 500

Barnes BV , Han FQ (1993) Phenotypic variation of Chinese aspens and their relationships to similar taxa in Europe and North America . Can J Botany 71 : 799 – 815

Choinski JS Wise RR (1999) Leaf growth and development in relation to gas exchange in Quercus marilandica Muenchhj . J Plant physiol 154 : 302 – 309

Cipollini D, Purrington CB , Bergelson J (2003) Costs of induced responses in plants , Basic Appl Ecol 4 : 79 – 85

Dalin P, Bjorkman C , Eklund K (2004) Leaf beetle grazing does not induce willow trichome defence in the coppicing willow Salix viminalis . Agric for Entomol 6 : 105 – 109

Ehrlinger J (1984) Ecology and physiology of leaf pubescence in North American desert plants , In : Rodriguez E, Healey PL , Mehta I (eds) Biology nd chemistro of plant trichomes . Plenum press , New York , pp 113 – 132

Farrar RR , Kennedy G (1991) Inhibition of Telenomus sphingis an egg parasitoid of Manduca spp by trichome 2 tridecanone – based host plant resistance in tomato . Entomol Exp Appl 60 : 157 – 166

Feeny pp (1976) Plant apparency and chemical defense . In Wallace JM , Mansell RL , (eds) Biochemical interaction between between plants and insects , Plenum press , New York , pp 1 – 40

Fordyce JA, Agrawal AA (2001) The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defence of the pipevine swallowtail Battus philenor . J Anim Ecol 70 : 997 – 1005

Gaffney T, Frierich L, Vernooij B, Negrotto D, Nye G, Ukness S, Ward E, Kessman H, Ryals J (1993) Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance , Science 261 : 754 – 756

Gange AC (1995) Aphid performance in an alder (Alnus) hybrid Ecology 76 : 207 – 2083

Handley R, Ekbom B, Agren J (2005) Variation in trichome density and resistance against a specialist insect herbivore in natural populations of Arabidopsis thaliana , Ecol Entomol 30 : 284 – 292

Hare JD (1992) Effects of plant variationon herbivore – natural enemy interactions . In ; Fritz RS , Simms EL (eds) Plant resistance to herbivores and pathogens ; ecology , evolution and genetics . University of Chicago press , Chicago , pp 278 – 298

Jeffree CE (1986) The cuticle , epicuticular waxes and trichomes of plants , with reference to their structure , function and evolution . In : Juniper B, Southwood SR (eds) Insects and the plant surface . Arnold , London , pp 23 – 64

Karban R, Baldwin IT (1997) Induced responses to herbivory . The University of Chicago press , Chicago , p 319

Karkkainen K, Agren J (2002) Genetic basis of trichome production in Arabidopsis Jyrata , Hereditas 136 : 219 – 226

Larkin JC , Young N, Prigge M, Marks MD (1996) the control of trichome spacing and number in Arabidopsis , Development 122 : 997 – 1005

Levin DA (1973) The role of trichomes in plant defence , Q Rev Biol 48 : 3 – 15

Marks MD (1997) Molecular genetic analysis of trichome development in Arabidopsis . Annu Rev plant physiol plant Mol Biol 48 : 137 – 163

Mauricio R (1998) Costs of resistance to natural enemies in field populations of the annual plant Arabidopsis thaliana , Am Nat 151 : 20 – 28

Nagata T, Todoriki S, Hayashi T, Shibata Y, Mori M, Kanegae H, Kikuchi S (1999) Gamma – radiation induces leaf trichome formationin Arabidopsis , Plant physiol 120 : 113 – 119

Nihoul P (1993) Do light – intensity , temperature and photoperiod affect the entrapment of entrapment of mites on glandular hairs of cultivated tomatoes . Exp Acarol 17 : 709 – 718

Obrycki JJ , Tauber MJ (1984) Natural enemy activity on glandular pubescent potato plants in the greenhouse : an unreliable predictor of effects in the field . Environ Entomol 13 : 679 – 683

Ohashi Y , Oka A (2002) Entopically additive expression of GLABRA2 alters the frequency and spacing of trichome initiation . Plant J 29 : 359 – 369

Payne CT , Zhang F, Lloyd AM (2000) GL3 encodes a bHLH protein thet regulates trichome development in Arabidopsis through interaction with GL1 and TTG1 . Genetics 156 : 1349 – 1362

Pollard AJ (1986) Variation in Cnidoscolus texanus in relation to herbivory . Oecologia 70 : 411 – 413

Raupp MJ (1985) Effects of leaf toughness on mandibular wear of the beetle , Plagiodera versicolora . Ecol Entomol 10 : 73 – 79

Rautio P, Markkola A, Martel J, Tuomi J, Harma E, Kuikka K, Sitonen A, Riesco IL , Roitto M (2002) Developmental plasticity plasticity in birch leaves : defoliation causes shift from glandular to nonglandular trichomes . Oikos 98 : 437 – 446

Schiefelbein J (2003) Cell – fate specificationin the epidermis : a common patterning mechanism in the root and Shoot . Curr Opin Plant Biol 6 : 74 – 78

Serna L, Martin C (2006) Trichomes : different regulatory networks lead to convergent structures . Trends plant Sci 11 : 1360 – 1385

Sharma HC , Waines JG (1994) Inheritace of leaf pubescence in diploid wheat . J Hered 85 : 286 – 288

Shen B, Sinkevicius KW , Selinger DA , Tarczynski MC (2006) The homeobox gene GLABR2 affects seed oil content in Arabidopsis . Plant Mol Biol 60 : 377 – 387

Traw BM (2002) Is induction response negatively correlated with constitutive resistance in black mustard ? Evolution 56 : 2116 – 2205

Van Dam NM , Hare JD , Elle E (1999) Inheritance and distribution of trichome phenotypes in Datura wrighii , J Hered 90 : 220 – 227

Wang S, Wang JW, Yu N, CH, Luo B, Gou JY , Wang LJ , Chen XY (2004) Control of plant trichome development by a cotton fiber MYB gene , plant Cell 16 : 2323 – 2334

Werker E (2000) Trichome diversity and development , Adv Bot Res 31 : 1 – 35

Westerberg A, Saura A (1992) The effect of serpentine and the population structure of Silene dioica , Evolution 46 : 1537 – 1548

Zvereva EL , Kozlov MV , Niemela P (1998) Effects of leaf pubescence in Salix borealis on host – plant choice and feeding behaviour of the leaf beetle , Melasoma lapponica , Entomol Exp Appl 89 : 297 - 303

ثانياً : المقاومة لآكلات العشب عند كيوتيكل النبات

المقاومة ضد آكلات العشب قد تبدأ بشكل كبير عند كيوتيكل النبات وهي منطقة الملامسة الأولى بين الكائنات الحية الغازية والنبات . بسبب الصفات الطبيعية – الميكانيكية والكيميائية فإن الكيوتيكل يقوم بوظائف هامة متعددة في النواحي الفسيولوجية والايكولوجية. المركبات الكيميائية للكيوتيكل أو عليه تستطيع أن تعمل مباشرة كمواد طاردة أو حتى سامة لآكلات الأعشاب . الخصائص الطبيعية – الميكانيكية للكيوتيكل تؤثر على حركية واستقرار الحشرات آكلة النباتات وكذلك تعمل كمضادات ومن ثم تؤثر بشكل مباشر وغير مباشر على خصائص الدفاع التركيبية . لا يعرف إلا القليل عن المقاومة المحفزة بالنظر لكيوتيكل النبات . الدفاع المحفز المباشر قد يعمل خلال إنتاج الشموع أو التخليق الحيوى لنواتج التمثيل الثانوى التى تستقر على كيوتيكل النبات بعد هجوم آكل العشب أو التى تحفز بواسطة مركبات إفرازات قنوات المبيض أو خطوات الأقدام . بالإضافة إلى ذلك فإن الخصائص الخاصة للكيوتيكل تؤثر على امتصاص المركبات التى تنشأ من أنواع آكلات العشب والتى تثبط مباشرة الأنواع ذاتها أو تؤثر على سلوك البحث للمضادات . يمكن أن يحدث ويعال الدفاع غير المباشر المحفز بواسطة التشابه بين بروفيل مركب الكيوتيكل بين النباتات وآكلات العشب التى تؤثر على الاستساغة بواسطة المفترسات . فى النهاية فإن خصائص الرؤية يمكن أن تتغير بسبب آكل العشب وتؤثر على سلوك إيجاد العائل للمفترسات وأشباه الطفيليات . استقرار وسلوك الكيميائيات الزراعية التى تستخدم لزيادة مقاومة المحصول تحدد بشكل عالى بواسطة خصائص الكيوتيكل المتفاوتة . فى هذا المقام سنحاول استعراض النواحى المختلفة عن دور كيوتيكل النبات فى إحداث المقاومة النباتية ضد آكلات النباتات كما سنتناول أهم الدراسات المستقبلية واجبة الإجراء فى هذا المجال .

١ – مقدمة

كيوتيكل النبات يعزل جميع أنسجة النبات فوق سطح الأرض من البيئة وتكون حاجز هام للحماية ضد فقد الماء بواسطة النسخ وكذلك تحمى ضد الأضرار الحيوية من الخارج . مع أى كائن يقترب من النبات فإن هذا السطح النباتى الخارجى ومن ثم يبنى منطقة التلامس الأولى . قبل أن تحدث آكلات العشب الضرر على الأنسجة النباتية فإن الكيوتيكل يثبط الارتباط والحركة والتغذية أو وضع البيض بكفاءة عالية . لذلك فإنه يمكن بوجه عام منع الحشرات (دون تكيف) عن ملامسة نواتج التمثيل الأولية والثانوية المتنوعة وأن هذا التلف يحفز من الأنشطة الإنزيمية ومن ثم تحدث استجابات دفاعية محفزة فى النباتات .

كيوتيكل النبات وصف جيداً بواسطة الصفات الطبيعية – الكيميائية وكذلك المورفولوجية . الكيوتيكل يكون على صورة فلم شفاف مستمر من الليبيدات البوليمرية والشموع الذائبة التى تغطى جميع الأنسجة الأولية الهوائية للنباتات الراقية والتى تتداخل

فقط مع الثغور التنفسية . يتكون الكيوتيكل من ثلاثة أجزاء رئيسية والتى تترسب على معظم المادة الخلوية الخارجية للبشرة كما أن طبقة الكيوتيكل تكون الأساس التى تغرس الكيوتيكل بشكل مناسب والذى يغطى بواسطة الشموع الخلوية السطحية . الكيوتين من البولى استر الحيوى يتكون من W هيدروكسى وهيدروكسى ايبوكسى للأحماض الدهنية مما يكون شبكة معضدة كثيفة تركيبية معضدة . الشموع الجليدية تكون مخلوط معقد من الأحماض الدهنية طويلة السلاسل ومشتقاتها وإضافياً مركبات حلقية مختلفة مثل بنتا حلقية للتراى تربينويدز . التركيب الكيميائى الخاص يؤدى إلى تركيب خاص متناهى فى الدقة والذى يختلف بشكل كبير بين الأنواع . لقد قام الباحث (Barthlott et al., (1998 بتقسيم ٢٣ نوع من الشمع والتى تختلف فى السمك وفى وجود وشكل البروزات من بين صفات أخرى .

C. Muller

Department of Chemical Ecology , University of Bielefeld , D- 33615 Bielefedl Germany .

e-mail : caroline.mueller@uni-bielefeld.de

الصفات الطبيعية – الكيميائية للكيوتيكل تؤثر على صفات السطح النباتى مثل اللون والقوام ووجود الكيميائيات النباتية Phyto chemicals (المتطايرة وغير المتطايرة) الهامة فى تحديد قبول العائل النباتى بواسطة الحشرات آكلة النباتات (Powell et al. 1999) . بوجه عام فإن الكيوتيكل يكون حاجز تركيبى مقاوم ضد آكلات العشب التى تفتقر إلى التكيف على سطح نباتى خاص . هذا ولو أن دورها الأساسى فى التداخلات بين النبات والحشرة مازال تحت حد الفهم والتمثيل فى الدراسات العلمية المرجعية . لقد ركزت دراسات عديدة وكثيرة على دور المركبات الثانوية النباتية لقبول أو رفض الحشرات والتى فى الغالب لا توجد على السطح الخارجى ولكن فى الأنسجة الداخلية للنبات فقط . الدراسات على تأثيرات المقاومة لكيوتيكل النبات اشتقت أساساً من البحوث على آفات المحاصيل . المقارنات بين قبول الطرز النباتية أو الأصناف ذات المستويات المختلفة من الشمع الذى يغطيها تساعد فى تحقيق دور معايير المقاومة التركيبية للنباتات . بالإضافة إلى ذلك فإن الدفاع التركيبى غير المشار يمكن أن يغرس عند كيوتيكل النبات حيث أن الكيوتيكل لا يحدد خصائص للحشرات آكلة النباتات فقط ولكن عمل ذلك للمفترسات وأشباه الطفيليات خاصة بواسطة التأثير على خصائص مقدرتها على الحركة) (Eigenbrodx , 2004 المعلومات المتوفرة عن دور كبير كيوتيكل النبات فى المقاومة المحفزة من جهة أخرى قليلة جداً مما يفتح المجال لدراسات مستقبلية فى هذا الخصوص) .

فى هذا المقام سوف نبدأ بوصف الصفات الطبيعية – الكيميائية لكيوتيكل النبات وهذا الوصف ضرورى لشرح الملامح التى تقرر دور الكيوتيكل فى التداخلات مع آكلات النباتات . سوف نركز على خصائص المقاومة التركيبية للنبات ضد آكلات العشب والتى قسمت إلى المقاومة المباشرة وغير المباشرة والأخيرة تعمل بواسطة التأثير على كفاءة المفترسات أو أشباه الطفيليات لآكلات العشب . الميكانيكيات والفاعلية تبنى على الصفات الطبيعية و / أو الكيميائية للكيوتيكل . سوف تشير إلى قليل من الأمثلة التى وجد فيها أن كيوتيكل النبات يشترك فى المقاومة المحفزة سواء بطريق مباشر أو غير مباشر . حيث أن الكيميائيات الزراعية تحتاج لاقتحام نسيج النبات خلال الكيوتيكل ومن ثم قد تغير سطح النبات بشكل واضح فإن تأثير معاملات وقاية النبات على التداخلات بين النبات والحشرة سوف تناقش .

٢ – خصائص الكيوتيكل Characteristics of Cuticle

٢ – ١– الصفات الطبيعية – الكيميائية

كيوتيكل النبات يكون حاجز خارجى كاره للماء Hydrophobic فى جميع الأجزاء فوق الأرض للنباتات الأرضية . سمك الكيوتيكل يختلف من ٠,٠١ وحتى ٢٠٠ ميكرومتر (awrath , 2006) . الكيوتيكل عبارة عن غشاء ثنائى الطبقات . فى البداية فإن الكيوتيكل يتكون من ليبيدات ذائبة وبوليميرية تخلق خارج الجدار الأولى للخلية . خلال تطور العضو فإن منطقة الجدار الأولى للخلية وأخيراً الجدار الخلوى الثانوى تصبح مغلفة مع الكيوتين مما يكون طبقة الكيوتيكل أسفل الكيوتيكل المناسب والذى يختلف فى السمك . مادة الكيوتين (داخل الكيوتيكل) تتكون فى الأساس من C16 W- hydroxyl وحدات الحامض الدهنى غير المشبع ك١٨ هيدروكسى ايبوكسى (Holoway , 1982) وتحتوى لدرجة أقل على الجليسرول ومركبات الفينول . بالإضافة إلى ذلك توجد سكريات مختلفة فى جدار الخلية فى طبقة الكيوتيكل . الشموع الكيتينية تمثل بكتريا مخلوط معقد من الايدروكربونات الاليفاتية طويلة السلسلة مع مركبات حلقية . الأقسام الكبرى لشموع الكيوتيكل هى ن – الكانات (ك١٧ – ك٣٥) وأجزاء صغيرة من مرادفات أو مشتقات سلاسل متجانسة من الأيز ومرادفات الأيزو Anteiso ، كحولات أولية (ك٢٢ – ك٣٢)، أحماض دهنية (ك١٢ – ك٣٢) ، الدهيدات (ك٢٢ – ك٣٦) ، كحولات ثانوية (ك٢١ – ك٣٣) ، بيتا داى كيتون (ك٢٧ – ك٣٥) واسترات ن – الكيل (ك٣٦ – ك٧٢) . بالإضافة إلى ذلك يمكن أن توجد تراى تربينويدز مختلفة معظمها من بنتا حلقية تراى تربينويدز . الشموع داخل الكيوتيكل فى أساس الكيوتيكل يكون مكونات مرتبطة جداً بينما شموع الكيوتيكل السطحى تترسب كفيلم أو تكون بلورات . شموع الكيوتيكل الداخلى والسطحى يمكن أن تؤخذ منهما عينات منفصلة وقد اتضح أن لهما تركيبات نوعية وكمية متميزة من مركبات الشموع . بعد إزالة أو كشط الشموع يحدث

تجديد ثابت فى العادة . بينما تظهر أفلام الشمع Ubiquitous فإن طبقات الشمع السميكة تكون نادرة . البللورات تختلف من واحد وحتى عشرات الميكرومترات فى الحجم وشكلها يتحدد بواسطة التركيب النوعى والكمى لمركبات الشمع . يمكن إيجاد أشــباه البللــورات والصفائح والانبيبات وشمع الثغور والأبر والخيوط وغيرها مما يحدد التكوين الدقيق لسطح النبات .

البروز الدقيق Microrelief يؤثر على عدة خصائص لسطح النبات مثــل القابليــة للبلل. بينما الأسطح الملساء تعانى من نقص بلورات الشمع ومن ثم تكون أكثر أو أقل بلل فإن الأسطح الخشنة تقدم طرد دائم للماء . الخشونة قد تتسبب بواسطة التراكيــب الدقيقــة المختلفة مثل بلورات الشمع وثنيات الكيوتيكل وكذلك بواســطة الترايكومــات . الســطح الخشن يساعد فى الحفاظ على الكيوتيكل جاف ونظيف حيــث أن الالتــصاق الميكــانيكى للجسيمات الصغيرة يتلف وجسيمات الماء ينساب بعيداً عن السطح أخذا الجسيمات معها . فى الدراسات المرجعية عن العلاقة بن النبات والحشرة فإن البروزات الدقيقة المختلفة فى العادة تكون مبسطة حيث تستخدم المصطلحات شمعية ولا مع صقيل أملس Glossy فقط. النباتات الملساء تملك فى العادة تعقيدات أقل من البروزات الدقيقة وكميات أقل من ليبيدات الكيوتيكل السطحى بالمقارنة بالطرز الشمعية الفينولوجية العادية . فى العادة فإن النباتــات الملساء تسمح بالارتباط السهل للحشرات عما هو الحال مع الأســطح العاديــة أو شــديدة الشمعية ولكن هذه الخصائص تختلف كذلك اعتماداً على النظام الخاص للنبات والحشرة .

بالإضافة إلى ذلك فإن البروز الدقيق لكيوتيكل النبات يــؤثر بــشكل كبيــر علــى الخصائص الضوئية أو صفات الرؤية . من أحد النواحى فإن الإشعاع يمتص على ســطح النبات ومن جهة أخرى فإن الفوتونات يعاد توجيهها عند مرور أو انتقال المراحــل مــع وسائل الانكسار المختلفة مسبباً انكسار واضح . الامتصاص الالكترونى للإشعاع يعتمــد على وجود مركبات مستقيمة أو حلقية تتضمن روابط زوجية عديــدة مثــل الفينــولات ، أحماض فينوكسى سيناپك ، فلافونويدز عديمة اللون أو أنثوسيانين . الدور الأولــى لهــذه المركبات يتمثل فى الحماية ضد التلف الذى يتسبب عن الأشعة فــوق البنفــسجية ولكــن حدوثها النوعى والكمى فى الكيوتيكل يحدد كذلك سلوكها الضوئى . الانكــسار الواضــح للإشعاع يعتمد على زاوية سقوط الإشعاع وزاوية الرؤية للفاحص كما فى الحشرات التى تقترب من المصدر . الأسطح العليا للأوراق الملساء تحقق قيم انكسار فى مجال الطيــف فوق البنفسجى A – (٣١٥ – ٤٠٠ نانوميتر) بين ٤ – ١٠% بينمــا أســطح الأوراق المغطاة بمظهر أخضر مزرق تعكس الإشعاع حتى ٢٥% . فى العديد من النباتات العفنة ذات الشموع الدقيقة على الكيوتيكل السطحى تعتبر محدثة لانكسار الأشعة فوق البنفسجية حتى ٨٠% والإشعاع المرئى (٤٠٠ – ٧٠٠ نانوميتر) حتى ٧٠% ومن ثــم تــستطيع الوصول للأسطح العليا للأوراق . كذلك فإن الترايكومات يمكن أن تؤثر علــى انكــسار

الإشعاع بدرجات عالية متفاوتة . دمج الامتصاص وخصائص انكسار الأطوار الموجبة الخاصة يؤثر فى النهاية على مظهر التلوين فى التكيوتيكل والذى يمكن أن يستخدم كإشارة لإيجاد الآفات آكلة النباتات للعائل النباتى خاصة مع الحشرات .

٢-٢- الخصائص الكيميائية الإضافية

بعد مركبات الشمع التقليدية أو بالدمج معها فإن نواتج التمثيل النباتية الأخرى الذى يكون وجودها هاماً فى التداخلات بين النبات والحشرة والتى تم تعريفها فى الكيوتيكل فيما يزيد من العقود الزمنية الأخيرة . الأحماض الدهنية الشمعية يمكن أسترتها مع الفينيل بروبا لويدز (كحول السيناميل) والداى تربينات (الفينول) والبنزيل وكحول الفينيل اثيل أو الكيل بنزوات . السلسلة الطويلة جداً من استرات فينيل بروبيل وفينيل بيوتيك وجدت فى أشواك كيوتيكل نبات تاكسس باكاتا (عائلة Taxaceae) . التوكوفيرولات تم الكشف عن وجودها فى شموع عدد من الأنواع النباتية .

الكربوهيدرات والأحماض الأمينية الذائبة قد تكون ناقصة فى سطح الورقة وهى تقدم معلومات حول جودة النبات كمصدر للغذاء المتاح للحشرات . هذا ولو أن نقص الكربوهيدرات فى السطح ذات حجم محدود حيث أن الكربوهيدرات الكبيرة تكون غير قادرة على المرور من الكيوتيكل . المركبات التى تكون فى الترايكومات قد ترتشح أو تتحرر على سطح النبات عندما تنضج حوصلة الكيوتيكل فى الترايكومات . لقد أشارت البحوث إلى أن الداى تربينويدز والسيدكيوتربينات وكذلك الفلافونويدز وغيرها من المركبات الفينولية توجد على سطح العائلات النباتية الراقية المتنوعة استقلالاً عن التريكومات . فى نباتات السرخس فإن الفلافونويدز تكون طبقات سميكة من الفارينوز على أوراق السرخسيات .

لقد وجد أن نواتج التمثيل الثانوية المختلفة ذات الأهمية أو كيميائيات معلوماتية فى التداخلات بين النبات والحشرة توجد فى مستخلصات سطح الورقة مثل الكالويدزبيروليسيدين فى نباتات العائلة النجمية والجلوكوسينولات فى العائلة الجنازية وكذلك الفيتوستيرولات . لقد حدث جدال كبير عند مناقشة هذه النتائج خاصة عندما تكون نواتج التمثيل غير متطايرة أو قطبية و / أو مشحونة . مستخلصات السطح جهزت مع مذيبات عضوية واستخدمت فى العديد من هذه الدراسات لعزل مركبات الكيوتيكل ودائماً تحجب خطر المركبات التى تنساب من أنسجة النبات ولا تنشأ فى الأصل من الكيوتيكل . لم يجد الباحث Soldeat وآخرون (١٩٩٦) الكالويدز بيروليسيدين فى أسطح نباتات Sanecio (العائلة النجمية) والالكالويدز الوحيد الذى تأكد وجوده فى مكونات الكيوتيكل مع طرق أكثر تقدماً فى فواكه بابافير . كذلك فإن وجود الجلوكوسينات على كيوتيكل النبات ليس مؤكداً . من الأفضل تجنب المستخلصات بالمذيبات العضوية وتستبدل بطرق إدمصاصية مختلفة باستخدام الماء المجمد أو الجليسرول وخلات السلليلوز أو الصمغ

العربى لإزالة الميكانيكية لشموع الكيوتيكل السطحى من سطح النبات للتحليل الكيميائى للمركبات الموجودة فيها . ترك النباتات في الظلام قبل الاستخلاص بالمذيب تقلل من مخاطر المركبات التى تذوب من داخل الورقة خلال الثغور التنفسية .

الكيميائيات العضوية غير المشحونة المحبة للذوبان فى الدهون توجد فى الكيوتيكل وتمتص على الأسطح النباتية عندما يعمل الكيوتيكل كمثبت . المركبات المتطايرة تصل للسطح خلال النقل من داخل الورقة خلال الكيوتيكل (اعتماداً على خصائص الجزىء) أو بواسطة الامتصاص من البيئة . هذه المواد المتطايرة تعمل كمواد كيميائية معلوماتية للحشرات (Lembdon et al., 1998) .

٢-٣- التباين فى كيوتيكل النبات

قد يختلف كيوتيكل النبات فى التركيب الدقيق والسمك والمكونات الكيميائية داخل النبات بسبب العوامل الداخلية والخارجية المختلفة . السطوح البعيدة عن المحور Abaxial والقريبة Adaxial تختلف بشكل كبير فى التركيب الكيميائى والتركيب الدقيق والتى تؤثر بدورها على التغذية وسلوك وضع البيض فى آكلات النباتات . العمر ومرحلة التطور والعضو من المحددات الداخلية الهامة لخصائص كيوتيكل الأوراق والثمار . خلال الشيخوخة فإن نظم الانكسار والتوزع تتغير كذلك مما يؤثر على خصائص الضوء لسطح الورقة ومن ثم تقدم معلومات مرئية عن جودة النبات . الظروف المناخية فى بعض أماكن المعيشة مثل الموسم أو الحرارة تعتبران من العوامل الخارجية الهامة التى تؤثر على خصائص الكيوتيكل وكذلك التآكل بواسطة الرياح والمطر أو بعض الغازات . العوامل الداخلية والخارجية قد تتداخل وكمثال وجود الزيوت الضرورية معاً مع الحرارة العالية قد تؤدى إلى انصهار صفيحات الشمع . التغيرات فى كيوتيكل النبات قد تتسبب كذلك بواسطة الحشرات الزائرة أو بواسطة الممرضات النباتية .

٣- المقاومة التركيبية Constitutive resistance

٣-١- الدفاع الطبيعى - الميكانيكى المباشر

بسبب المورفولوجى الخاص لشموع سطح الكيوتيكل السطحى فإن كيوتيكل النبات يكون مقاومة تركيبية كحاجز ضد العديد من الحشرات الزائرة . حماية الأزهار من الزوار غير المرغوبين وصفت مبكراً بواسطة الباحث (1879) Kerner وتتحقق بواسطة وسائل مضادة للكسوة Antirobbing التى تغطى السويقات . أوراق نباتات Ilex aquifolium ملساء بحيث أن العديد من الحشرات لا تستطيع مسكها أو التشبث بها . ارتباط وحركة بيض الحشرات والرسخ على التوالى يمكن أن تثبط بقوة اعتماداً على كمية وتركيب شموع الكيوتيكل السطحى . حركة وتغذية اليرقات الجديدة على وجه الخصوص تتأثر بواسطة التركيب الخاص للكيوتيكل . التعقيد الأقل للتركيب الدقيق للكيوتيكل السطحى للأسطح

المعتدلة تؤدى إلى خفض بقاء يرقات حشرة بلوتيللا زيلوسيتلا بالمقارنة مع البقاء على ذات الطرز الجينية الشمعية بداية التغذية وسرعة المشى لهذه اليرقات تقل على الأسطح المصقولة بالمقارنة بالطرز الجينية الشمعية . الطرز الجينية للسورجم ذات الطبقة الشمعية غير البللورية الناعمة وبلورات الشمع الخفيفة أكثر مقاومة لذبابة ساق السورجم Atherigona soccata من رتبة ثنائية الأجنحة عن الطرز الجينية الأخرى . لذلك فإن الأسطح المصقولة تقدم عامل مقاومة هام ضد آكلات الأوراق . ميكانيكيات المقاومة الأخرى قد تتضمن تأثيرات Pleiotr لصفة الصقل على الخصائص النباتية الإضافية مثل الإجهاد المائى . بشمول أكثر فإن الأنواع النباتية ذات الأسطح المصقولة والتوهج الشمعى المنخفض تكون فى الغالب أكثر مقاومة للآفات الحشرية عما هو الحال مع الأنواع أو الأصناف ذات الأسطح الشمعية ولو أن المقاومة درست فى الأساس ضد الديدان الحديثة أو الحشرات الصغيرة مثل المنّ أو التربس . المقدرة المتزايدة لهذه الحشرات على المشى على الأسطح الشمعية قد تشترك كجزء من عملية التخصصية للنبات العائل .

من جهة أخرى فإن العديد من الحشرات تجابه متاعب أو صعوبات كى تلتصق بشكل مناسب على الأسطح الشمعية مثل الخنافس البرغوثية على الطرز الجينية الشمعية من الكرنب هذا يؤدى إلى خفض التغذية على هذه النباتات والشموع تمنع كذلك استقرار أو التصاق خنفساء أوراق الخردل والتى تلتصق أفضل على أسطح الأوراق المصقولة . الأوراق تستطيع تغيير تركيبها الدقيق عندما تنضج حيث تتحول من ترتيب أكثر تنوع الشموع الكيوتيكل السطحى إلى النوع المصقول كما فى أنواع الكافور المختلفة . أوراق الكافور الصغيرة أكثر مقاومة للهجوم بواسطة الخنفساء السلحفية وكذلك لوضع البيض والاستقرار بواسطة حشرة البسليد بينما تكون أكثر حساسية لفراشة الصمغ الخريفى . الأسطح العادية أو الشمعية للأوراق والثمار تستطيع استقبال بيض أكثر أو أقل عن الطرز الجينية المصقولة والأخيرة تؤدى إلى زيادة المقاومة للآفات . المظاهر المرئية المختلفة للطرز الجينية المصقولة قد تساهم فى القبول بواسطة الحشرات التى تستخدم لون الورقة للتمييز بين النباتات العوائل .

الإزالة الميكانيكية للشموع النباتية على الكيوتيكل السطحى فى الغالب تؤدى إلى حساسية عالية لآكلات الأوراق كما فى حالة العديد من حشرات بسيليدى وخنافس كريزوميليد والفراشات . خلات السليلوز فى أوراق الشوفان المخططة تخترق مبكراً بواسطة حشرات المنّ عما هو الحال مع الأوراق السليمة . على العكس فإن آكلات الأوراق وحيدة العائل قد تحتاج طبقات كيوتيكل سطحى سليمة لاكتشاف العائل . وفرة طبقة الشمع العادية أو القليلة لابد وأن يكون تأشير فى النهاية على تنوع مفصليات الأرجل.

٣-٢- الدفاع الكيميائى المباشر

التركيب الكيميائى لليبيدات الكيوتيكل قد يسبب مقاومة ضد العديد من آكلات النباتات الحشرية من خلال إدراك الإحساس بواسطة تراكيب حسية عالية التطور متبوعة بسلوك التجنب أو الابتعاد . النشاط المضاد للسم Antixenotic لمستخلصات الهكسان والكلوروفورم لسطح بعض النجيليات أعلى عن الأنواع الأخرى ضد ذباب الهيشيان . استخدام شموع الكيوتيكل السطحى للطرز الوراثية المقاومة من Rhodoendron على الطرز الوراثية الحساسة يسبب خفض فى التغذية ووضع البيض لحشرة Stephanitis pyrioides . الغذاء Meriic diet يحتوى على مستخلصات لبيد للكيوتيكل خفض نمو حشرة Spodoptero frugiperda من عائلة حرشفية الأجنحة . أصناف نبات Medicago sativa التى تحتوى أكثر من ٥٠% استرات شمعية أكثر مقاومة للمنّ ثيريوافيس ماكولاتا . التأثيرات الطاردة لشموع أسطح بادرات السورجم ضد الجراد الرحال ترجع إلى المركبات بارا – هيدروكسى بنزالدهيد ، ن – الكان وفصلات الاستر . إضافة n-alkane-1- ols والكحولات الخاصة ذات ذرات الكربون C24 , C25 لمكونات شمع الكرنب المترسبة على شريحة زجاجية قللت من فترة العفن وزادت من وقت تجول الأطوار الحديثة من حشرة P.xylostella.مشتقات استر الحمض الدهنى3-0 (كربون ١٢ – ١٨) للأحماض التراى تربينيك خماسية الحلقة ، حمض يورسوليك وحمض أوليانوليك جنباً إلى جنب مع الأحماض الأصلية وجدت محدثة لأنشطة فعالة كمانعات للتغذية ضد دودة ورق القطن . التراى تربينول الفا وبيتا أميرين يثبط تغذية الجراد الرحال ويقلل من سلوك القبول لحشرة P.xylostella . أصناف نبات Rubus idaeus من العائلة الوردية ذات المستويات العالية من استرات سيكلوأرتينيل ، استرات أميريك والمركبات الأخرى التى توجد فى شموع الكيوتيكل أكثر مقاومة لحشرة المنّ A.idaei . السسكوتربينات التى تقع فى الترايكومات لنبات ليكوبرسيكون هيرسوتوم سامة لليرقات الحديثة من حشرة خنفساء L.decaemlineata . الحشرات الكاملة من خنفساء كلورادو البطاطس تدمر بعض أنواع السولانوم البرى عن طريق سقوطها على الأرض بعد دقائق قليلة من ملامسة سطح النبات . ولو أن هذا السلوك يحفز بواسطة الترايكومات فإن المكونات غير المتطايرة لمستخلصات سطح الورقة عرفت على أنها مانعات للالتهام ضد الخنفساء ولو أن هذه المستخلصات قد تحتوى على مركبات أخرى غير شموع الكيوتيكل .

المركبات السامة أو الثانوية الطاردة قد تتركز لمستويات أعلى فى السطوح الملساء عما هو الحال مع السطوح الشمعية ومن ثم تزيد من مقاومة النبات . من جهة أخرى فإن شموع الكيوتيكل السطحى قد تشمل مركبات ثانوية التى تعمل كمنشطات للتغذية أو وضع البيض ومن ثم تزيد من خصائص المقاومة النباتية .

٣-٣- الدفاع التركيبى غير المباشر Constitutive

الدفاع التركيبى غير المباشر للنبات ضد الحشرات آكلات العشب يمكن أن تتحقق عن طريق الأضرار بقدرات الحركة والالتصاق لكل من المفترسات وأشباه الطفيليات على الكيوتيكل . الاختلافات فى الشكل الظاهرى الدقيق وكيمياء ورقة النبات يؤدى إلى حدوث كفاءات افتراسية مختلفة لآكلات اللحوم . كفاءة المفترسات زادت مرات عديدة على الطرز الوراثية الملساء بالمقارنة بالأنواع الشمعية . على وجه الخصوص فإن يرقات أبى العيد والخنافس تسقط فى الغالب من على النباتات كما أن المنّ الذى يصيب المجموع الخضرى يكون أقل كفاءة على النباتات التى يوجد على الكيوتيكل السطحى لها سحابة من الشمع . لذلك فإن الطرز الفينولوجية الملساء تحسن من كفاءة بعض المفترسات مما يؤدى إلى حدوث مقاومة بشكل غير مباشر ضد آكلات العشب . انتخاب وتربية الطرز الفينولوجية استخدمت بشكل خاص للسيطرة على آفات الكرنب .

لقد لوحظت نفس التأثيرات مع أشباه الطفيليات . بينما دبابير Diaeratiella rapae من رتبة غشائية الأجنحة تسرح ببطء أكثر وتطير فى رحلة الزفاف بتكرارية عالية وتسقط من على أوراق أصناف القرنبيط ذات طبقات الشمع الكثيفة ولقد تحسنت كفاءة السرح للمنّ على الكرنب بدرجة كبير عندما أزيلت طبقات شمع الكيوتيكل السطحى . دبابير Aphidius ervi تمضى وقت نشاط أكثر فى السرح على نباتات البسلة ذات الشمع القليل وهذا قد يساهم فى تحقيق معدل تطفل عالى على منّ البسلة A.pisum . هذا ولو أن المفترسات وأشباه الطفيليات يبدو أنها تفضل النباتات ذات الشمع القليل على الأوراق الشمعية حيث أنها تظهر معدلات نجاح عالية للافتراس والتطفل على هذه النباتات بسبب الالتصاق الأفضل كثيراً على الأوراق الملساء .

على العكس فإن العديد من أنواع المفترسات تستطيع السرحان فعلياً بكفاءة أكثر على الأسطح الشمعية . القليل من أنواع السيرفيدى أظهرت أفضلية وضع البيض على النباتات ذات الشمع الكثيف على الكيوتيكل السطحى وبذلك يزيد من مقاومة النباتات ضد آكلات العشب . فى بعض أنواع المفترسات تكون الأطوار التطورية المختلفة ذات مقدرة على تغيير قدرتها بما يتمشى مع تركيب سطح النبات . كذلك أتضح أن أشباه الطفيليات غيرت من قدرتها على المشى والسرح على كيوتيكل الأسطح الملساء فى مقابل الشمعية . التركيبات الإضافية على السطح مثل الترايكومات تملك عروق فى الأوراق أو سيقان ذات أقطار صغيرة أو زوائد قد تساعد الحشرات آكلة اللحوم فى إيجاد مسكة على النبات تتشبث بها .

فى العلاقة التبادلية بين النمل والنبات تلعب الصفات الطبيعية – الكيميائية دوراً هاماً فى قدرات ارتباط أو استقرار الأنواع الخاصة وغير الخاصة من النمل . الارتباط الدقيق الثابت مع أنواع النمل النشيطة تزيد من مقاومة النبات ضد آكلات العشب التى تسرح

بواسطة النمل . لقد درست الارتباطات بين نبات Macranga والنمل فى هذه التداخلات بالتفصيل بواسطة Federle , 1997 .

هذا ولو أن الدفاع التركيبى المباشر أتضح أن يتأثر بواسطة الصفات الطبيعية – الميكانيكية للكيوتيكل وكذلك بواسطة وجود بعض المركبات الكيميائية على السطح فإن ميكانيكيات الدفاع التركيبية غير المباشرة ترجع أساساً إلى الصفات الطبيعية – الميكانيكية.

٤- المقاومة المحفزة Induced Resistance

٤-١- الدفاع المحفز المباشر

النباتات تستجيب لعدد من استجابات الدفاع المحفزة لتغذية آكلة العشب . فى العديد من أنواع النباتات وجد أن التغيرات فى التركيب الأولى مثل نسبة الكربون / للنتروجين C / N ratio (Ohgwhi, 2005) وكذلك التغيرات فى تركيزات نواتج التمثيل الثانوية استجابة لآكل العشب تؤدى إلى زيادة أداء النبات . كذلك وجد أن مثبطات البروتينيز تحفز بواسطة الضرر حيث تخفض من مقدرة هضم المادة النباتية لآكلات العشب ومن ثم تزيد من المقاومة النباتية . آكلات العشب نفسها أظهرت مستويات مختلفة من التكيف للتغلب على الاستجابات الدفاعية النباتية والتى يمكن أن تقسم إلى دفاع تركيبى أو محفز . ولو أن معلوماتية كبيرة تراكمت عن الميكانيكات التى تؤدى إلى تحفيز صفات الدفاع فى أنسجة النبات بعد التلف الميكانيكى أو بواسطة آكل النبات فإنه لا يوجد إلا القليل نسبياً عن التأثيرات المحفزة على كيوتيكل النبات .

لقد لوحظت تأثيرات مباشرة على إنتاج الشمع بعد التلف الذى يحدثه المنّ فى نباتات الفول . إصابة أوراق السورجم بواسطة حشرة Sipha flava أدت إلى خفض الشمع البللوى على الكيوتيكل السطحى بالمقارنة بالأوراق غير المصابة . هذا ولو أن الأوراق المصابة أصبحت أكثر حساسية للمنّ عن الأوراق السليمة .

عند سطح الورقة النباتية يمكن أن تزيد كثافة الترايكومات استجابة لآكل العشب . الترايكومات المحفزة تستطيع إفراز نواتج تمثيل مختلفة مثل الفلافوفولز أو أى مركبات محبة للدهون أخرى والتى تغير من كيمياء السطح . هذه الاستجابات قد تظهر متأخرة فى الأنواع الحية مثل الأشجار : كثافة الترايكومات الغدية وتركيزات العديد من المركبات المحبة للدهون على سطح الورقة ازدادت فى شجرة التبولا التى تساقطت خلال الصيف السابق . التأثيرات تكون مرئية كذلك فى الأفرع الجهازية وتؤثر على أنواع مختلفة من آكلات العشب بدرجات متفاوتة .

معاملة أوراق البقدونس Apium graveolens بحمض الجسمونيك أو مقترنات الحمض الأمينى لحامض الجسمونيك تنشط التخليق الحيوى لعدد من الفيورانوكومارينات

والتى تترسب فى جزء منها على الأقل على سطح الورقة . ولو أن هذه تعمل كمنشطات لوضع البيض مع بعض المتخصصات فإن لها تأثيرات طاردة وكذلك على آكلات العشب العامة .

الجروح بواسطة الحشرات والكشف عن محفزات الحشرة الناشئة من الإفرازات الفمية بواسطة النبات تؤدى إلى انطلاق السيستيمين وغيرها من الببتيدات العديدة التى تنشط جهازياً العديد من جينات الدفاع ومسارات النقل الاشارى تتضمن مسار تأثير حمض الجسمونيك وحتى مع عدم وجود أى تلف فى نسيج النبات فإن النباتات تستطيع تطوير المقاومة عن طريق الاستجابة فور ملامسة الحشرة الزاحفة . خطوات أقدام يرقات الحشرة الزاحفة وغير الجارحة تنشط تخليق ٤- أمينوبيوتيرات والسوبراكسيد خلال وقت قصير والتى قد تعول ميكانيكيات مقاومة محلية سريعة (Bown et al., 2002) . إنتاج السوبراكسيد يؤدى إلى موت موضعي للخلايا قد تلعب دوراً وظيفياً فى الإنتاج ضد العدوى بواسطة الممرضات الضارة عند موضع التلف من مسار اليرقات (Hall et al., 2004). استجابة النبات للحشرات الزاحفة قد تحاكى ما حدث من الشفط بواسطة الإبر الدقيقة مما أدى إلى الاقتراح بتأثيرات طبيعية – ميكانيكية من مخدات اليرقات على سطح النبات.

هذا فإن الوسائد المرتبطة على رسغ الحشرات تنتج إفرازات سائلة مطلوبة للالتصاق الرطب على سطح النبات . ولو أن التركيب الكيميائى لهذه السوائل درس فقط فى عدد قليل من الأنواع فإنها تميل إلى الحفر فى شموع الكيوتيكل . بللورات الشمع المحفورة وجدت أنها تكون كتلة غير متبلوة على وسائل الالتصاق مما يؤثر على حركة الحشرات . هذه الإفرازات من السوائل وتأثيراتها على شمع الكيوتيكل السطحى تكون منشطات هامة للنبات لتحفيز استجابات المقاومة .

قد يوجد محفز آخر لاستجابات الدفاع المبكرة للنباتات فى إفرازات قناة المبيض والتى تنبعث خلال التبويض . عندما يكون البيض فقط موجود ملتصق على الكيوتيكل دون ظهور أية أضرار مرئية على الأوراق بواسطة وضع البيض فإنه لا يكون واضحاً كيف أن المحفزات الفعالة دخلت إلى نسيج النبات . لقد أوضح البحاث Muller and Rosenderger (2006) أن إفرازات التبويض يمكن أن تمتص فى كيوتيكل نبات هذه الأنواع (مثل حشرة Lilioceris Lilii) من غمدية الأجنحة وقد تنفذ خلال الثغور التنفسية . هذه الإشارات قد تصل وتدخل الأنسجة النباتية بما يسمح للنبات بالاستجابة لهجوم الحشرات مع تحفيز الاستجابات المباشرة وغير المباشرة للدفاع .

فى النهاية فإن امتصاص المركبات المنفردة من آكلات النباتات كل على حدة على الكيوتيكل قد تؤثر على النوع ذاته . لقد تم الكشف عن المكون الرئيسى لإفراز يرقات خنفساء الأوراق P. Cochlcariae وهو iridoid (epi) – chrysomelidial فى

مستخلصات سطح الأوراق التى تغذت عليها اليرقات . الإفراز له تـأثير طـارد علـى الحشرات الكاملة لنفس النوع . الفورمونات الطاردة لوضع البيض ذكرت مع عـدد مـن الأنواع التابعة لرتب مختلفة (Anderson , 2002) إناث ذباب تيفويتيد يعلم الثمرة بهذه الفورمونات بعد التبويض حيث أن الثمرة تستطيع تعضيد عدد محدود من اليرقـات فـإن الإناث الأخرى سوف تتجنب الثمار المعلمة كعوائل ملائمة لنـسلها . ثبـات الفورمـون يختلف من ساعات قليلة وحتى أيام عديدة وتعتمد على طبيعـة الفورمـون والخـصائص الطبيعية – الكيميائية لسطح الكيوتيكل .

٤-٢- الدفاع المحفز غير المباشر

ليبيدات الكيوتيكل تقوم بوظائف هامة فى التداخلات عديدة التغذية حيث أن مكوناتها الكبرى قد تكون متشابهة جداً من الناحية الكيميائية بين كيوتيكل النباتات وآكلات النباتات ومفترساتها . مكونات ليبيد الكيوتيكل ليرقات Manuca sexta تختلف قليلاً اعتماداً على تركيب السطح لنباتات عوائلها الخاصة . هذا التفـاوت المـرتبط بالغـذاء يـؤثر علـى الاستساغة بواسطة النمل المفترس ومن ثم على ملامح المقاومة النباتية بشكل غير مباشر . النطاط المهاجر أو الرحال Melanopus sanguinipes تغرس ن – الكائنات الخاصة بكيوتيكل النبات فى جدار جسمها والذى يستخدم فـى تمييـز العائـل بواسـطة بعـض المفترسات وأشباه الطفيليات . هذا ولو أن هذا النوع من المحاكاة يؤدى إلى حماية كاملة : يرقات Mechanitis polymnia من حرشفية الأجنحة تدافع عن نفـسها ضـد النمـل المفترس C.crassus عن طريق التشابه بين ليبيدات الكيوتيكـل الخاصـة بهـا وتلـك الموجودة فى النباتات العوائل من العائلة الصليبية . على الأنواع النباتية الأخـرى فـإن اليرقات لا تستقبل التموية الكيميائى وتعودت على معدلات افتراس عالية . أيدروكربونات الكيوتيكل النباتية للثمار وأغطية بذور التفاح تم الكشف عنها فـى اليرقـات والحـشرات الكاملة للفراشة الغجرية Cydia pomonella من حرشفية الأجنحة ولاحقاً تـم معرفـة وجود تماثل بين الفراشات الكاملة وشبيه الطفيل أسكوجاستركوادرى دنيتاتـا مـن رتبـة غشائية الأجنحة . حتى مع شبيه الطفيل الفائق وهو بيريلامبوس فولفيكورنيس كان واحـد من ليبيدات الكيوتيكل المسمى بنتاكوسين كان متماثلاً مع عائله . هـذه العلاقـات تمثـل تضمين هام لبيولوجية أفراد المستويات الغذائية المختلفة وذلك لقبول العائل من ملائمته . بشكل غير مباشر فإنها قد تؤثر مرة أخرى على خصائص المقاومة النباتية .

تغذية آكل النبات صانع الأنفاق فى الأوراق أتضح أنه يؤدى إلى زيادة كميات تراى تربين اسكوالين على سطح أوراق التفاح والتى تعول موضع العائل لشبيه الطفيل . تحفيز إنتاج الشمع بعد إحداث المنّ للثقوب لوحظت فى نبات بيتا فلجاريس وقد يستخدم فى تحديد موضع العائل بواسطة أشباه الطفيليات .

تطاير المركبات التى تحفز بواسطة التغذية أو وضع البيض والتـــى تجـذب أفـــراد المستوى الثالث من التغذية يتأثر بالتأكيد بواسطة ليبيدات الكيوتيكل السطحى على ســطح النبات والذى بدوره يؤثر بشكل غير مباشر على خصائص المقاومة النباتية . امتـصاص المركبات العضوية المتطايرة في الشمع ومسارات النقل خلال الكيوتيكل تحدد بشكل كبير بواسطة حب المركبات للذوبان فى الدهون بواسطة ضغط البخار المـشبع فـــى الغـــلاف الجوى أعلى الكيوتيكل وبواسطة الخصائص الطبيعية الكيميائية الخاصة لكيوتيكل النبات . الدراسات الخاصة بجذب أشباه الطفيليات بواسطة المواد المتطايرة المحفزة بآكلات العشب يكون من الأهمية فهم حركيات النقل ومعرفة تركيزات المركبات الفاتحة على سطح النبات وعلى بعد منه .

الإصابة بآكلات الأعشاب تستطيع أن تؤثر على مظهر الرؤيـــة لـــسطح النبـــات . المفترسات ذات الإدراك اللونى الجيد سوف تتفاعل مع التغيرات الطفيلية وتفترس أكثـــر وبكفاءة . كمثال فإن عصافير شجرة الصفصاف تظهر استجابة للتغيرات فى طيف الأشعة البنفسجية والتى تنتج من تحفيز الفلافوفويدز فى السطح بسبب التلف الذى تحدثه فراشـــة النشارة . تغذية المغذيات الداخلية Endophytic تؤدى إلى الجفاف وفقد اللون مما يـــؤثر على الإشارات اللونية وغير اللونية أساساً بواسطة التغيرات فى التباين بالنـــسبة لأشـــباه الطفيليات التى تبحث عن العوائل من العذارى . كذلك فإنه مع العاكسات المستقطبة التـــى تحدد بواسطة الانعكاس لشموع الكيوتيكل السطحى وتفرق جسيمات الـــسطح قـــد تتغيـــر بواسطة الحشرات صانعات الأنفاق وتؤثر على إيجاد العائل بواسطة آكلات العشب .

٥- حماية المحصول Crop protection

طبيعة كيوتيكل النبات تؤثر بشكل كبير على ترسيب والـــسلوك المتتـــابع للمبيـــدات ومنظمات النمو والمغذيات على المجموع الخضرى وغيرها من الكيميائيات المـــستخدمة للمزروعات . بالنسبة للحماية الجهازية للمحصول يتم رش العديد من الكيميائيات الزراعية على الأوراق والتى عليها أن تنفذ أولاً من كيوتيكل النبات حيث يعمل السطوح الـــشمعية فيلم والشموع المفروشة فى الكيوتكيل كحواجز هامة . غير الالكتروليتات العضوية تنتشر طبيعياً داخل وعبر الكيوتيكل مع حركة متباينة اعتماداً على نوع النبات والحالة الوراثيـــة وحجم وشكل المذاب ودرجة الحرارة ووجود المحفزات . المواد المحفزة يحفـــز ســـائلية شموع الكيوتيكل بواسطة العمل كمواد بلاستيكية ومن ثم تحفز النفاذية المتتابعة من المواد المحبة للدهون غير الالكترولتينية . معرفة أهمية دور المركبات التى تستخدم ككيميائيـــات زراعية وكذلك كيميائيات تحفز الانتقال خلال الكيوتيكل وثقـــت مـــن خـــلال إدراكيـــات النباتات. الطبيعة الخاصة للكيوتيكل تحدد كذلك ثبات الكيميائيات الزراعية المختلفة علـــى سطح النبات .

لا يعرف إلا القليل عن التغيرات فى الصفات المورفولوجية والخصائص الطبيعية – الكيميائية للكيوتيكل بعد المعاملة بالمبيدات الحشرية والعشبية والتى تعمل على الحشرات آكلة النباتات . لقد تم التوصل إلى أن الكيوتيكل يلعب دوراً هاماً فى تمييز العائل وقبول العائل وكذلك القابلية لتثبيت الأرجل والبيض وكذلك التأثير الواضح والكبير على التداخلات بين النبات والحشرة كان متوقعاً بواسطة تغيير ملامح السطح النباتى خلال استخدام الكيميائيات الزراعية . المعاملة بمبيد الحشائش ضد أنواع Brassica spp بمركب إ – اثيل داى بروبيل ثيوكاربامات أدى إلى خفض شموع الكيوتيكل السطحى . النباتات المعاملة تعود مرة أخرى أكثر قبولاً لوضع البيض بواسطة حشرة P.xylostella . بقاء اليرقات الحديثة انخفض بشكل كبير على هذه النباتات . هذا بينما المعاملة بالمبيد الحشرى لم تقتل آكل النباتات فقط ولكنها قد تؤثر سلبياً على الحشرات النافعة مثل المفترسات وأشباه الطفيليات . عندما استخدم مبيد الدلتامثرين اتضح أنه ينتشر بسرعة فى كيوتيكل شلجم الزيت . شبيه الطفيل Diaeretiella ragae من غشائية الأجنحة تأثر قليلاً من مخلفات هذا البيروثيودز ومن ثم كان ذات محدودية فى خفض تعداد منّ الخوخ .

خلاصة القول أن كيوتيكل النبات الذى يحقق المقاومة النباتية يجب أن يكون له خصائص مختلفة . للدفاع المباشر الفعال يجب أن يكون للكيوتيكل سطح ذات تركب دقيق بحيث لا تستطيع آكلات النباتات المشى عليه كما لا يلتصق عليه البيض كما لا ينشط . التغذية أو وضع البيض وخاصة المواد المغذية . يجب أن يكون مغطى بالشموع الكيوتيكل ولا يوجد على السطح الخارجى . بالنسبة للدفاع غير المباشر فإن التركيب الدقيق يجب أن يمكن آكلات اللحوم بالصيد الفعال كما أن امتصاص المواد الجاذبة والمنشطات للمفترسات وأشباه الطفيليات يجب أن يكون ملائماً كما أن المظهر المرئى للنباتات يجب أن تغدر بآكلات النباتات وتجعلهم فى متناول الأعداء . حيث أن الأنواع المختلفة من آكلات العشب وآكلات اللحوم لها تكيف مختلف لخصائص معينة من الكيوتيكل فإن هذا الكيوتيكل الملائم لا يكون متوفراً أبداً .

References

Agrawal AA (1998) Induced responses to herbivory and increased plant performance , Science 279 : 1201 – 1202

Baker EA (1974) The influence of environment on leaf wax development in Brassica oleraceae var , gemmifera , New Phytol 73 : 955 – 966

Baldini E, Facini O, Nerozzi F, Rossi F, Rotondi A (1997) Leaf characteristics and optical properties of different woody species , Trees – Struct Funct 12 : 73 – 81

Bargel H , Barthlott W, Koch K, Schreiber L, Neinhuis C (2004) plant cuticles : multifunctional interfaces between plant and environment . In : Hemsley AR , Poole I (eds) The evolution of plant physiology . Elsevier Academic Press , London , pp 171 – 194

Barnes JD , Cardoso – Vilhena (1996) Interactions between electromagnetic radiation and the plant cuticle . In : Kerstiens G (ed) Plant cuticles : an integrated functional approach . BIOS Scientific , Oxford , pp 157 – 174

Barthlott W, Neinhuis C (1997) Purity of the sacred lotus , or escape from contamination in biological surfaces . planta 202 : 1 – 8

Caldwell MM (1968) Solar ultraviolet radiation as an ecological ractor for aipine pans .Ecol Monogr 38 : 243 – 268

Carter CD , Gianfagna TJ , Sacalis JN (1989) Sesquiterpenes in glandular trichomes of a wild tomato species and toxicity to the Colorado potato bettle , J Agric Food Chem 37 : 1425 – 1428

Cervantes DE , Eigenbrode SD , Ding HJ , Bosque – perez NA (2002) Oviposition responses by Hessian fly , Mayetiola destuctor , to wheats varying in surfaces waxes . J Chem Ecol 28 : 193 – 210

Chang GC , Neufeld J , Durr D, Duetting PS , Eigenbrode SD (2004a) Waxy bloom in peas influences the performance and behavior of Aphidius ervi , a parasitoid of the pea aphid . Entomol Exp Appl 110 : 257 – 265

Chappell M, Robacker C (2006) Leaf wax extracts of four deciduous azalea genotypes affect azalea lace bug (Stephanitis pyrioides Scott) syrvival rates and behavior . J Am Soc Hort Sci 131 : 225 – 230

Cockell CS , Knowland J (1999) Ultraviolet radiation screening compounds . Biol Rev 74 : 311 – 345

Dicke M, Takabayashi J, Posthumus MA , Schute C, Krips OE (1998) Plant – phytoseiid interaction mediated by herbivore – induced plant volatiles : variation in production of cues and in responses of predatory mites . Rev Exp Appl Aca 22 : 311 – 333

Dutton A, Mattiacci L, Amado R, Dorn S (2002) A novel function of the triterpene squalene in a tritrophic system . J Chem Ecol 28 : 103 – 116

Edwards PB (1982) Do waxes of juvenile Eucalyptus leaves provide protection from grazing insects ? Aust J Ecol 7 : 347 – 352

Ehleringer JR , Bjorkman O (1978) Pubescence and leaf spectral characteristics in a desert shrub , Encelia farinose , Oecologia 36 : 151 – 162

Eigenbrode SD (2004) The effects of plant epicuticular waxy blooms on attachment and effectiveness of predatory insects . Arthr Struct Devel 33 : 91 – 102

Eigenbrode SD , Kabalo NN (1999) Effects of Brassica oleracea waxblooms on predation and attachment by Hippodamia convergens . Entomol Exp Appl 92 : 125 – 130

Fatouros NE , Bukovinszkine Kiss G, Kalkers LA , Gamborena RS , Dicke M, Hilker M (2005) Oviposition – induced plant cues : do they arrest Trichogramma wasps during host location ? Entomol Exp Appl 115 : 207 – 215

Federle W , Bruening T (2005) Ecology and biomechanics of slippery wax barriers and wax running in Macaranga ant mutualisms . In : Harrel A , Speck T , Rowe N (eds) Ecology and biomechanics : a mechanical approach to the ecology of animals and plants . CRC Press , Boca Raton , pp 163 – 185

Gorb SN (1998) The design of the fly adhesive pad : distal tenent setae are adapted to the delivery of an adhesive secretion . Proc Roy Soc Lond Ser B – Biol Sci 265 – 747 – 752

Gouret E , Rohr R, Chamel A (1993) Ultrastructure and chemical composition of some isolated plant cuticles in relation to their permeability to the herbicide , diuron , New Phytol 124 : 423 – 431

Grant L, Daughtry CST , Vanderbilt VC (1993) Polarized and specular reflectance variation with leaf surface – features , Physiol plant 88 : 1 – 9

Grevstad FS , Klepetka BW (1992) The influence of plant architecture on the foraging efficiencies of a suite of ladybird beetles feeding on aphids / Oecologia 92 : 399 – 404

Hagley EAC , Bronskill JF , Ford EJ (1980) Effect of the physical nature of leaf and fruit surfaces on oviposition by the codling moth , Cydia pomonella (Lepidoptera , Tortricidae) . Can Entomol 112 : 503 – 510

Hall DE , Mac Gregor KB , Nijsse J, Bown AW (2004) Footsteps from insect larvae damage leaf surfaces and initiate rapid responses , Eur J Plant Pathol 110 : 441 – 447

Harborne JB , Williams CA (2000) Advances in flavonoid research since (1992) . Phytochemistry 55 : 481 – 504

Henrique A, Portugal A, Trigo JR (2005) Similarity of cuticular lipids between a caterpillar and its host plant : a way to make prey undetectable for predatory ants ? J Chem Ecol 31 : 2551 – 2561

Hilker M , Kobs C, Varama M, Schrank K (2002) Insect egg deposition induces pinus sylvestris to attract egg parasitoids , J exp Biol 205 : 455 – 461

Jeffree CE (1996) Structure and ontogeny of plant cuticles . In : Kerstiens G (ed) plant cuticles : an integrated functional approach / BIOS Scientific Publishers , Oxford , pp 33 – 82

Jeffree CE (2006) The fine structure of the plant cuticle . In : Riederer M , Muller C (eds) Biology of the plant cuticle . Blackwell publishing , Oxford , pp 11 – 125

Jenks MA , Gaston CH , Goodwin MS , Keith JA , Teusink RS , Wood KV (2002) Seasonal variation in cuticular waxes on Hosta genotypes differing in leaf surface glaucousness . Hort Sci 37 : 673 – 677

Kareiva P, Sahakian R (1990) Tritrophic effects of a simple architectural mutation in pea plants , Nature 345 : 433 – 434

Kerner A (ed) (1879) Schutzmittel der Bluthen gegen unberufene Gaste / Verlag der Wagner schen Universitatts – Buchhandlung , Innsbruck

Kerstiens G , Schreiber L, Lendzian KJ (2006) Quantification of cuticular permeability in genetically modified plants . J Exp Bot 57 : 2547 – 2552

Kessler A , Baldwin I T (2002) Plant responses to insect herbivory : the emerging molecular analysis , Annu Rev Plant Biol 53 : 299 – 328

Lambdon PW , Hassall M , Mithen R (1998) Feeding preferences of woodpigeons and flea – beetles for oilseed rape and turnip rape . Ann Appl Biol 133 : 313 – 328

Leveau JHJ (2004) Leaf surface sugars , In : Decker M (ed) Encyclopedia of plant and crop science Dekker M, New York , pp 642 – 645

Mallavadhani UV , Mahapatra A, Raja SS, Mnjula C (2003) Antifeedant activity of some pentacyclic triterpene acides and their fatty acid ester analogues . J Agric Food Chem 51 : 1953 – 1955

Markstadter C , Federle W , Jetter R , Riederer M , Holldobler B (2000) Chemical composition of the slippery epicuticular wax blooms on Macaranga (Euphorbiaceae) ant – plants . Chemoecology 10 : 33 – 40

Nawrath C (2006) Unravelling the complex network of cuticular structure and function . Curr Opin plant Biol 9 : 281 – 287

Neinhuis C , Koch K, Barthlott W (2001) Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles , planta 213 : 427 – 434

Ohgushi T (2005) Indirect interaction webs ; herbivore – induced effects through trait change in plants / Annu Rev Syst 36 : 81 – 105

Olsson LC , Veit M, Weissenbock G , Borman JF (1998) Differential flavonoid response to enhanced UV – B radiation in Brassica napus . Phytochermistry 49 : 1021 – 1028

Pelletier Y , Dutheil J (2006) Behavioural responses of the Colorado potato beetle to trichomes and leaf surface chemicals of Solanum tarijense , Entomol Exp Appl 120 : 125 – 130

Reifenrath K , Riederer M , Muller C (2005) Leaf surface wax layers of Brassicaceae lack feeding stimulants for phaedon cochleariae . Entomol Exp Appl 115 : 41 – 50

Riedel M, Eichner A, Jetter R (2003) Slippery surfaces of carnivorous plants : composition of epicuticular wax crystals in Nepenthes alata Blanco pitchers . Planta 218 : 87 – 97

Schoonhoven LM , van Loon JJAS , Dicke M (2006) Insect – plant biology . Oxford University Press , Oxford UK

Severson RF , Rrendale RF , Chortyk OT , Johnson AW , Jackson DM , Gwynn GR , Chaplin JF , Stephenson MG (1984) Quantitation of the major cuticular components from green leaf of different tobacco types . J Agric Food Chem 32 : 566 – 570

Talley SM , Coley PD , Kursar TA (2002) Antifungal leaf – surface metabolites correlate with fungal abundance in sagebrush populations . J Chem Ecol 28 : 2141 – 2168

Uematsu H , Sakanoshita A (1989) Possible role of cabbage leaf wax bloom in suppressing Diamondback moth plutella xylostella (Lepidoptera : Yponomeutidae) oviposition , Appl Entomol Zool 24 : 253 – 257

Van Dam NM , Hadwich K, Baldwin I T (2001) Induced responses in Nicotiana attenuate effect behavior and growth of the specialist herbicore Manduca sexta . Oecologia 122 : 371 – 379

Walton TJ (1990) Waxes , cutin and suberin . In : Harwood JL , Boyer J (eds) Lipids , membranes and aspects of photobiology . Academic Press , London , pp 105 – 158

Yang G , Isenhour DJ ; Espelie KE (1991) Activity of maize leaf cuticular lipids in resistance to leaf – feeding by the fall armyworm , Florida Entomol 74 : 229 – 236

Zalucki MP , Clarke AR , Malcolm SB (2002) Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera . Annu Rev Entomol 47 : 361 - 393

الباب الخامس

تكوين الأدمة من الجروح وقنيات الراتنج الجرحى وخلايا البرانشيمه عديدة الفينولات فى الصنوبريات

أولاً : تكوين الأدمة من جراء حدوث الجروح

آكلات النباتات والحشرات القارضة على وجه الخصوص تسبب تلف واضح ومؤثر للنبات . بالإضافة إلى فقد النسيج النباتى فإن هناك اهتمام كبير بغزو المسبب الممرض وفقد الماء عند موقع الهجوم . من أحدى استراتيجيات الدفاع النباتى تكوين الأدمة مع حدوث الجرح عند حواجز منطقة الغزو والتلف لعزلها عن الأنسجة السليمة غير المجروحة . تطور أدمة الجرح بعد تغذية الحشرة لم يفحص بوجه خاص على الإطلاق ولو أن دراسات آكلات الأعشاب وتشفير الجروح أظهرت تداخل مكثف فى مجموعات الجينات المحفزة المسئولة .

خصائص الحماية بالأدمة ترجع فى الأساس إلى الجدر الفلينية لطبقات الخلايا الخارجية . السوبيرين يتكون من أساس البولى استر العطرى والأليفاتى ومادة الشمع المرتبطة مما يقدم حواجز بيوكيميائية وتركيبية ضد الغدوى بالممرض ويساهم فى نفاذية الماء للأدمة . معظم المعلومات المتاحة حالياً عن أدمة الجرح تتأتى من عمليات الاندمال لدرنات البطاطس المجروحة ميكانيكياً .

١ - مقدمة

الأعضاء النباتية الهوائية عادة ما تحمى بواسطة الكيوتيكل والشموع التى تفصل البيئة الخارجية والأنسجة الداخلية ومساعدة صيانة الاستقرار الداخلى المتجانس Homeostasis بمجرد حدوث ضرر على السطوح النباتية فإن الأنسجة الداخلية تتعرض للأوساط المحيطة وقد تصبح جافة و / أو مصابة بالممرضات إلا إذا كانت عدم النفاذية ستعاود الاستقرار . النباتات لا تشفى الجروح من مفهوم أن النسيج التالف يعاود التجديد بشكل كامل وبدلاً من ذلك فإن شفاء الجرح تتضمن تحجيم غزو الممرض وفقد السائل .

ولو أن استجابات الجروح قد تختلف بين الأنواع والأعضاء المختلفة فإنها تتبع نظام مشابه . الطبقة الأولى للخلايا السليمة المجاورة للجرح تتحور بواسطة تحاكم المواد المضادة للميكروبات المختلفة والمواد غير المنفذة للماء والتى تتضمن اللجنين والسوبرين لتكون طبقة مغلقة (Thomson et al., 1995) .

الأدمة عبارة عن نسيج واقى ذات أصل ثانوى يحل محل البشرة عندما تتلف خصائص الحماية للأدمة ترجع فى الأساس إلى ترسيب الجزيئات الضخمة للسوبيرين على جدر طبقة خلاياها الخارجية . تكوين الأدمة ظاهرة شائعة فى سوق وجذور ثنائية الفلقات Gymnosperms التى تزيد فى السمك بواسطة النمو الثانوى وكذلك فى Lenticels وبعد الجرح . فى الواقع فإن تكوين الأدمة وعمليات تكوين السوبيرين تعتبر واحدة من الاستجابات العامة لحدوث الجروح بصرف النظر عن طبيعة البوليمر الواقى الطبيعى فى نسيج النبات (Kalattukudy , 2001 , Bloch , 1941) .

فى الغالب فإن جميع آكلات النباتات خاصة الحشرات القارضة تسبب ضرراً وتلفاً مؤثرا عند موقع الهجوم . بالإضافة إلى التلف الفورى والموضعى للنبات يسبب فقد النسيج فإنه يوجد اهتمام كبير بفقد الماء من مكان Perimeter الضرر (Aldea et al., 2005) . من إحدى استراتيجيات دفاع النبات ما يتمثل فى تكوين أدمة الجرح عند حواف منطقة الغزو أو التلف لعزلها من النسيج السليم غير المجروح . أدمة الجرح قد تمنع حدوث غزوات متتابعة للآفة . وتمنع حدوث عدوى من الممرض . هذا ولو أن تطور أدمة الجرح بعد تغذية الحشرة لم يدرس بشكل خاص . دراسات العلاقة بين أكل النبات وإشارات الجرح أظهرت تداخل فى المجاميع المعنية من الجينات المحفزة وأن تغذية الحشرة تم محاكاتها باستخدام النباتات التى تم جرحها ميكانيكياً ولكن هذه التجارب قصيرة جداً لكى تسمح بتكون الأدمة .

معظم المعلومات الجارية عن أدمة الجروح وتكوين السوبيرن اشتقت من عمليات الاستقرار المحفزة بالجروح فى درنات البطاطس . تكوين أدمة الجرح تحفز بواسطة إزالة جلد الدرنة أو عمل أقراص من الدرنة نفسها باستخدام ثاقب الفلين والسماح للنسيج المعرض بالشفاء . هذه الطريقة تمكن من عزل كميات كبيرة من الأدمة السوبيرينية التى تصبح عندئذ متاحة للتوصيف التشريحي والكيميائى وكذلك للقياسات المباشرة لنفاذية الماء . بالإضافة إلى المميزات التقنية الموجودة فى استخدام نظام قرص درنة البطاطس فإنه يوجد تطابق بين أدمة الجرح فى البطاطس والأدمة فى النباتات الأخرى . تطور وتشريحية النسيج ذات تشابه كبير وقد وجدت المكونات الكيميائية للسوبيرين من الأنواع الأخرى فى الأدمة السوبيرينية للبطاطس . خصائص الأدمة المحفزة بالجرح فى درنات البطاطس جعلها نموذج جيد لدراسة نسيج الأدمة السوبيرينية المحفزة بالجروح فى النباتات .

٢- أدمة البطاطس : الأصل والتشريح

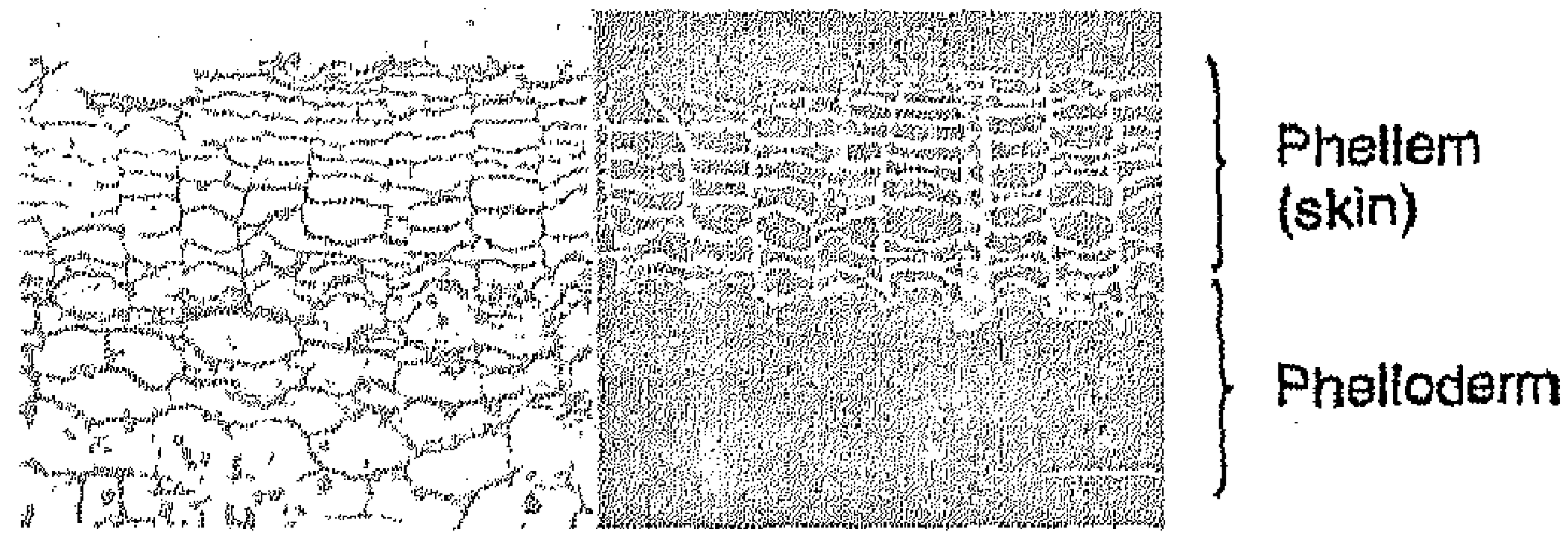
نسيج الأدمة يحل محل البشرة مبكراً فى تطور درنة البطاطس (Reeue وآخرون ، ١٩٦٩) . هذا النوع من الأدمة سواء كان يتكون طبيعيا أو كان أدمة أصلية تشابه أدمة الجرح من حيث أصل النسيج والتركيب والموروفولوجى (Sabba and Lulai , 2002)

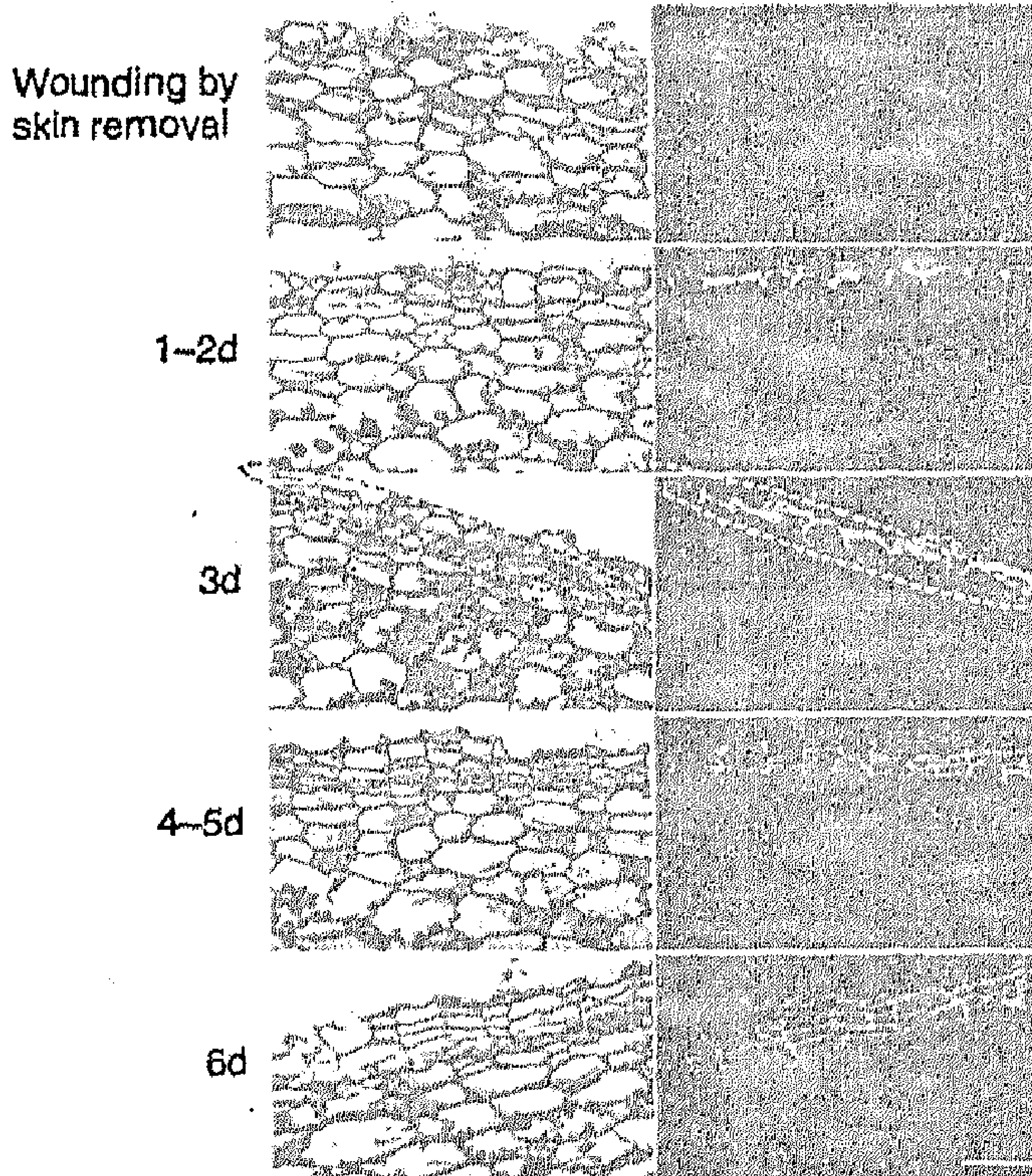
. نوعى الأدمة هاتين يتكونا من مكونات كيميائية متشابه ولو أنهما يختلفان فى كمياتهمـا النسبية .

الأدمة الأصلية تبدأ بواسطة انقسام كلا خلايا البشرة وتحت البشرة بداية عند نهايـة الساق وأخيراً فى منطقة نهاية البرعم للدرنة . يستمر إضافة أدمة جديدة بواسطة الانقسام الخلوى خلال نضج الدرنة . كفاءة ومقدرة إنتاج أدمة جديدة عند حدوث الجـرح تـستمر مستقرة بواسطة الأنسجة البرانشيمية فى الدرنة ولكنها تكون فى معظم الأحيان قريبة مـن الأدمة الأصلية أو الأصلية (Artschwager , 1927) .

كلا الأدمات الأصلية والناتجة من الجرح تتكون من ثلاثة أنواع من الخلايا : خلايـا الفيلين السوبيرينية الخارجية المشتقة من الطبقة المرستيمية وحيدة الخليـة ، الفيللـوجين (كامبيوم الفلين) والتى تقع تحتهم ، الانقسامات الخلوية الداخلية للفيللوجين تضيف لأدمة الفيللين شبيهة البرانشيمية (الشكل ٥-١) . بعد السوبيرينية لجدرها فإن خلايـا الفللـين تموت ومن ثم تخلق الطبقة الواقية الخارجية . الاصطلاح أدمة Periderm ومـا يـشير لمكوناتها اشتق من الكلمات اليونانية ومن بينها Phellem التى تعنـى الفلـين Cork أو الجين Gen أو لإنتاج To produce أو ديرما Derma أو جلد Skin أو بيرى Peri أو حوالى About (Esau,1965) . فى الدرنات غير المجروحة فإن الفلين السوبرينية يكون جلد البطاطس .

فى كلا الأدمة من الجروح أو الأصلية فإن خلايا الفلين تعـرف بواسـطة شـكلها المستطيل وترتيبها فى خطوط عمودية وبواسطة حقيقة أن جدرها تضىء فلوريسينيا تحت الأشعة فوق البنفسجية (الشكل ٥-١) . هذا النظـام العمـودى نتيجـة لأصـلها مـن الانقسامات Periclinal فى طبقة خلايا الفيللوجين أما الفلوريسينية ترجـع إلـى وجـود بوليمرات عطرية سوبيرينية فى جدر الخلايا . فى الأدمة غير الناضجة (فى كلا أدمـة الجروح أو الأدمة الأصلية) فإن الفيللوجين النشط فى الانقسام يكون متحركاً وميال للشق بما يسمح بفصل الفلين السوبيرين من الأدمة الفلينية Phelloderm وخلايا البرانـشيمة . عندما يتوقف نشاط الفيلوجين المرستيمى فإن جدر الخلايا تصبح أسمك وأكثـر مقاومـة للشق . البكتينات غير الأسترية قد تشترك فى التصاق الخلية - الخلية من خـلال بكتـات الكالسيوم التى تتكون وقد تم الكشف عنها فى الأدمة الأصلية الناضجة . هذا ولو أن نضج أدمة الجرح لا ترتبط مع الزيادة فى البكتين غير المؤستر فى جدر الفيللوجين . لذلك فإنه كى يتحقق أقصى حماية فى منطقة الجرح فإنه يجب أن تتطور أدمة ناضجة بعد الجـرح وفيها يتوقف نشاط الفيللوجين ويحدث التصاق لطبقة الفلين السوبيرينية بشدة مع الفيللودرم الموجودة تحتها .





شكل (٥-١) : الأدمة الأصلية وتلك الناتجة من الجروح في البطاطس . القطاعات العرضية للبطاطس تم صبغ السطح الدرنة بالصفرانين O / Fast Green وأظهرت بواسطة ميكروسكوبات الضوء (الافريز الأيسر) والأشعة UV (الافريز الأيمن) لفحص موروفولوجى النسيج والفلوروسنس الذاتى للخلايا السوبيرنية على التوالى . (A) الأدمة الأصلية للدرنة الناضجة مع خلايا الفلين السوبرينية (الجلد) والفلودرم شبيه البرانشيما ، (B) تطور ادمة الجرح بعد إزالة الجلد . السوبيرينية المحفزة بالجروح لخلايا الدرنة المعرضة (١ – ٣ يوم) . فى اليوم الثالث الفيلوجين المرستيمى الذى

يظهر كمنطقة متعددة الأنوية تطورت تحت هـذه الخلايـا (الـدوائر) انقسامات الفيلوجين ينتج طبقات الفلين السوبرينية (٤ - ٦ يوم) .

٣- التركيب الكيميائى للأدمة

٣-١- سوبيرين Suberin

٣-١-١- الحدوث

الأدمة تحقق خصائصها الوقائية للجدر السوبرينية لخلايا الفلين . لقـد أدى تعريـف الجدر السوبرينية فى العديد من الأعضاء النباتية إلى الاستنتساج أن سوبيرنية جدر الخلية ما هى إلا ميكانيكية شائعة حيث تستخدمها النباتات عندما تحتاجها فى جدار الخليـة كـى تصبح حاجز فعال للانتشار . الأمثلة تشمل البشرة السطحية والتحتية والداخلية فى الجذور وفى الأعضاء النباتية الأخرى تحت سطح الأرض مثـل الـدرنات و Stolons وكـذلك سوبيرينية خلايا شالازال وغلاف الحزمة وقاعدة الغدد المفرزة حيث يكون مطلوباً تركيبية المواد المغذية أو المواد السامة . من الأمثلة الخاصة الجدر السوبرينية للخلايـا المخزنـة للفينول وهى جزء من ميكانيكية الدفاع النباتية التركيبية ضد حيوانات الرعى والحـشرات التى تتغذى على النباتات . المركبات السامة تبقى محصورة فى حالـة موازنـة أو ثقـل مخفض داخل تجاويف الخلية ولكنها فى نفس الوقت تحقق وسائل لأكسدتها السريعة ومن ثم يحدث فقد التقسيم كما يحدث من خلال الجروح . المركبات الفينولية هذه قـد تـستخدم لاحقاً كوحدات بنائية لجزئيات السوبيرين الكبيرة كواحدة من وسائل غلق الموقع الفـورى للنفاذ الخلوى . إذا داوم الإجهاد فإن نفس العمليات تحفز البناء طويـل المـدى لحـامض الاندول أسيتيك (IAA) والاثيلين مما يؤدى إلى حدوث طوفان من الحوادث التى تنـتج دفاع بالأدمة على عمق حتى سنتيمترات تحت مكان الحظر الفورى .

بالإضافة إلى التخليق الحيوى المنظم للنمو فإن تخليق السوبيرين يحفز وبوليمراتـه تترسب فى جدر الخلايا المجاورة لمواقع الجرح خلال اندمال الجرح . من الأكثر أهميـة أن تطور السوبيرنية لا يتطور فقط على الدرنات وغيرها من الأعضاء التى تحمى طبيعياً بواسطة السوبيرين ولكنها تشمل كذلك ما يحدث على الثمار والأوراق التى تحمى طبيعيـا بواسطة الكيوتين (Simons and Chn , 1978) .

٣-١-٢- الوضعية الخلوية Cellular localization

يتكون السوبيرين من البولى استرات العطرية والاليفاتية وكذلك مادة الشمع المرتبطة بها وهى تقع بين الجدار الأولى والبلازماليما . نموذج الجزيئات العملاقة للـسوبيرن أدت إلى الاقتراح بأن المكون العطرى يرتبط بكربوهيدرات جدار الخلية أما المكون الاليفـاتى يرتبط بالروابط مع المركبات الفينولية عبر روابط الاسـتر . الفحـص بالميكروسـكوب

الالكترونى المساح للجدر السوبرينية أظهرت تركيب ضوئى Lammellar وفيه يحتمل أن تكون شرائح الضوء الأساسى الأليفاتى (Soliday et al., 1979) . السوبيرين فى أدمة جرح البطاطس يترسب من طبقة الخلايا القديمة الخارجية نحو الداخل . يحدث الترسيب فى النظام الحلقى داخل كل طبقة خلوية بداية على جدر الخلايا المماسية الخارجية ثم على الجدر المرتبطة القطرية وفى النهاية على الجدر المماسية الداخلية .

تركيب السوبيرين ومكوناته الكيميائية والإنزيمات المشتركة فى تخليقه الحيوى استعرضت بالتفصيل (Bermards , 2002) . فى هذا المقام سوف نشير لهذه المعلومات باختصار لتوضيح تعقيد عملية السوبرينية وصعوبات تناول تركيبه وتكوينه والتى مازالت حتى وقتنا هذا وصفت جزئياً فقط .

٣-١-٣- التنقية والتقدير Purification & detection

حيث أن السوبيرين يترسب داخل جدار الخلية ويرتبط بها يصبح من المستحيل عزل سوبيرين نقى من جدار الخلية . فى حالة اندمال أو تعافى أقراص البطاطس فإن نسيج الأدمة يقشر بعيداً عن لحم الدرنة وتزال الكربوهيدات الملتصقة بواسطة المعاملة بخليط من إنزيمات التحلل المائى أو هيدروليزيس مثل السليوليز والبكتينيز تاركة وراءها مادة غير ذائبة غنية فى الجدر السوبرينية . يمكن عمل تحلل مائى إضافى للسكريات العديدة غير السليلوزية باستخدام حامض تراى فلورو أسيتيك . الشموع الذائبة المرتبطة بالبوليمر يتم استخلاصها عندئذ بالمذيبات العضوية وتقدر بواسطة الكروماتوجرافى الغازى المزود بمطياف الكتلة GC/MS. المكونات الاليفاتية تحرر من البوليمر بواسطة فقد البلمرة مع التحلل القلوى والأسترة الناقلة بواسطة المثيانول فى وجود BF3 أو كربونات الصوديوم NaOCH3 أو التحلل المائى الايدروجينى مع LIALH4 فى تتراهيدروفينوران . الاثير وروابط ك – ك فى البوليمر العطرى تنقسم تأكسدياً مع النيتروبنزين القلوى وأكسيد النحاس CUO أو المعاملة بالثيوجليكولات . المونوميرات السوبرينية المشتقة تعرف بواسطة GC / MS وجهاز HPLC أو الرنين النووى المغناطيسى NMR .

٣-١-٤- التركيب الكيميائى والتخليق الحيوى

الأساس العطرى لسوبيرن أدمة البطاطس يتكون من هيدروكسى سيناميت ومشتقاتها الأميدية وكذلك المونولجينول . المكونات الأساسية للجزء الأليفاتى w , a – داى أسيوز و w – هيدروكسى أسيدز مع كميات صغيرة من الكان – ١ – أولز وأحماض الكانويك . لقد اقترح أن الجلسرين يشترك فى رابطة عبورية بين البولى استرات المقابلة بما يسمح بتكوين شبكة ثلاثية الأبعاد وحديثاً اتضح أن جين الجليسرول – ٣ – فوسفات أسيتال ترانسفيريز 5 يلعب دوراً محدداً فى التخليق الحيوى لجدار الخلية السوبيرينية . بالإضافة إلى ذلك فإن أدمة البطاطس تحتوى حتى ما يزيد عن ٢٠% من الليبيدات القابلة

للاستخلاص (شموع) إلى جانب مركبات الشمع ذات السلسلة الخطية الاليفاتية الطويلة تم الكشف عن الكيل فيريولات كمكونات مؤثرة ففى أدمة الجرح وصلت كمياتها لما يزيد عن ٦٠% من المستخلصات الكلية .

من المهم ملاحظة أن أساسيات السوبيرين العطرى والأليفاتى تختلف عن اللجنين والكيوتين على التوالى . التمييز الأكبر بين الكيوتين والسوبيرين يتمثل فى أن الأول يحتوى على سلسلة هيدروكسيلية قطبية و / أو أحماض ايبوكسى كمكونات كبرى . اللجنين يتكون من كحولات هيدروكسى سيناميل بوليمرية مثل المونوليجنول .

مسار الفينيل بروبانويد يحفز فى كلا التخليق الحيوى للسوبيرين العطرى واللجنين . أنشطة أنزيمات فينيل الانين أمونيا – ليز (PAL) و ٤– كوماريك – COA ليجيز – 4) (CL وسيناميل كحول ديهيدروجينيز (CAD) تزداد فى كلا عمليات السوبيرينية واللجننة بينما إنزيم سيناموبل – COA أوكسيدو ريدكتاز (CCR) يحفز نشاطه فقط عند بداية عملية اللجننة (Bernards et al., 2000) . نقص تحفيز CCR فى أدمة البطاطس السوبيرينية توضح تكوين قنوات من هيدروكسى سينامول – COA بعيداً عن تكوين مونوليجنول وفى المقابل يتجه التفاعل نحو مشتقات السوبيرين . هيدروكسلة ومثللة أحماض هيدروكسى سيناميك تحدث عند مستوى مشتقات هيدروكسى سيناموبل – COA وحصرياً فإن إنزيم أوكسى – ميثيل ترانسفيريز السوبيرينى يشفر من الذرة (Held et al., 1993) . تكوين قنوات فينيل بروبانويد الفينولية فى السوبيرين أدى إلى الاقتراح بمشاركة نشاط إنزيم تراى أمين هيدروكسى سيناموبل ترانسفيريز (THT) كما أن CDNA الخاص به يشفر من البطاطس . لقد اقترح لاحقاً أن الأساس الفينولى تحدث له بلمرة خلال نشاط البيروكسيديز ويتطلب فوق أكسيد الايدروجين H_2O_2 والسوبيرينية المرتبطة بالبيروكسيديز الأنيونى ككلون . الصور مشابهة الكاتيونية قد تشترك كذلك ولو أنها لم تكن كلونت بعد .

التفاعلات الخاصة بالسوبيرين الأليفاتى تشمل إطالة الحمض الدهنى (ك ١٨ ، ك ٢٤ إلى ك ٣٢) والأكسدة . إنزيم كيتوأسيل – COA – سينسيز يساعد الخطوة الأولى فى الإطالة ١٨ : صفر عبر مالونيل – COA وهى تكلون من جذور الذرة الأولية السوبيرينية . أنشطة إنزيمى ديهيدروجينيسيز التى تعتمد على NADP التى تحفز أكسدة w – هيدروكسى أسيدز و w – أوكسوأسيد إلى أحماضها دايكربوكسيليك المقابلة والتى تعتبر الخطوات الفاتحة فى التخليق الحيوى للسوبيرين الأليفاتى ولو أن CDAA المقابلة لها لم تكلون بعد . لقد اقترح أن غرس الفريوليتات فى بوليمرات السوبيرين تكون خلال الاقتران إلى أحماض دهنية الهيدروكسى بواسطة إنزيم هيدروكسى حمض دهنى فيريوليل – COA ترانسفيريز (HHT) .

التحليل الكيميائى المكثف للسوبيرين مكن من تعريف المكونات المونوميرية ومحدودة الميرية وعمل نموذج افتراضى للتركيب فى جدار الخلية . فى هذا المقام سوف نوضح بعض نماذج التخليق الحيوى لمكونات السوبيرن وتفاعلات البلمرة والروابط بين الأساس الأليفاتى والعطرى وترسية الجزيئات العملاقة من الكربوهيدرات فى جدار الخلية الأولى . مازالت هذه الترسية وتنظيم تحفيز السوبيرين والتخليق الحيوى فى حاجة لمزيد من الإيضاح .

٤- خواص الحماية لأدمة الجروح

بعد سوبرينية جدر خلاياها فإن خلايا الفلين تموت مما يخلق طبقة واقية تغطى النسيج المعرض قبلا عند موضع الجرح . جثث الخلايا تملأ بالهواء ومن ثم تقدم العزل الحرارى وبذلك تقوم الجثث بمنع غزو الجدر بواسطة الكائنات الدقيقة (ميكانيكيا وكيميائيا) ورواسب الشمع التى تغرس داخل مادة السوبيرين بما يمنع جفاف النسيج النباتى المعرض قبلاً (Kolattukudy , 1977) . الميكانيكيات التى يعمل بها السوبيرين فى تحقيق المقاومة للمرض تم اقتراحها بواسطة هذا الباحث ، ١٩٨٤ حيث يمكن أن يعمل كحاجز لانتشار إنزيمات الممرض أو التوكسينات فى الأنسجة الحية كحاجز تكوينى أو تركيبى ضد دخول المسبب المرضى أو كحاجز بيوكيميائى للميكروبات بسبب النسبة العالية للمواد الفينولية المغروسة فى بوليمر السوبيرين .

فى درنات البطاطس فإن التخليق والتكامل فى جدر الخلية لأميدات هيدروكسى سيناميك آسيد للترايامين والأوكتابين يكون استجابة مبكرة جداً للجروح (Negre et al., 1993) . هذه الأميدات تحقق نشاط مضاد للفطريات وقد اتفق على أنها تساهم فى تكوين الحاجز الفينولى الأولى ضد غزو الممرض ويكون قوالب البناء مع الفينولات الأخرى لأساس السوبيرين عديد العطرية والذى يعمل حينئذ كحاجز دائم مما يحدث إحلال للجليد . أساس السوبيرين العطرى تقوى جدر الخلية لاحقاً ضد إنزيمات التحلل المائى الفطرية وقد أتضح أن سمك طبقة الخلايا السوبرينية ترتبط بشكل كبير مع المقاومة للممرضات . أدوار الأساس الفينولى للسوبيرين تم تعضيده بواسطة التجارب مع مثبطات تخليق فينولات السوبيرين والتى تمنع تطور المقاومة للممرض . لقد اقترح بعد ذلك أن الأساس الفينولى للسوبيرين تقدم مقاومة للبكتريا (أروينيا كاروتوفورا) وليس العدوى بالفطر (فيوزاريوم – سامبوكينم) بينما ترسيب الأساس الأليفاتى للسوبيرين يكون مسئولاً عن الحالة الأخيرة.

فى نسيج درنة البطاطس المندمل من الجرح وجد أن ترسيب المكونات الأليفاتية للسوبيرين ترتبط مع تطور المقاومة عند سطح النسيج لانتشار بخار الماء . هذا ولو أن الشموع التى ترتبط ببوليمر السوبيرين أقترح أنها تلعب الدور المحدد فى نفاذية الأدمة للماء . المكون الخاص لتخليق الشمع يثبط تطور المقاومة لانتشار بخار الماء على سطح الأدمة مما يوضح أن الشموع ترتبط ببوليمر السوبيرين عما هو الحال مع البوليمر نفسه

مما يكون حاجز الانتشار الأكبر الذى يتكون خلال اندمال الجرح . هذا الدور للشموع المرتبطة بالسوبيرين تكون مرادفة لإسهام مادة الشمع فى الكيوتيكل الهوائى ونفاذية الماء تقدر بشكل كامل بواسطة الشموع . استخلاص الشمع من الأدمة يؤدى إلى زيادة فى نفاذية الماء (Vogt et al., 1983) .

من المثير للاهتمام أن نفاذية الماء لأدمة الجرح تكون فى المتوسط ١٠٠ مرة أعلى من الأدمة الطبيعية . لقد قام الباحث Schreiber وآخرون (٢٠٠٥) بالربط بين تكوين وكمية الأساس الأليفاتى لأدمة درنة البطاطس مع كفاءته كحاجز لانتقال الماء . الاختلافات فى التركيب الكيميائى للسوبيرين وكميته بين الأدمة الأصلية السليمة والمجروحة قليلة بالنسبة للاختلافات الكبيرة فى نفاذية الماء مما أدى إلى الاقتراح بأن الترتيب الجزيئى والوضعية الدقيقة لترسيب السوبيرين والشموع المرتبطة به داخل جدار الخلية تساهم فى كفاءته كحاجز لانتقال الماء .

٥- إقامة أو تشييد حاجز الأدمة

٥-١- نظام توقيت تطور الأدمة

بعد حدوث الجرح فإن إقامة الحاجز الواقى قبل غزو الممرض واستقراره تعتبر أساسية لتحقيق مقاومة العائل . لذلك فإن معدل تطور الأدمة وسوبرينية خلاياها الفلينية الخارجية من المحددات الهامة فى حدوث شفاء للنبات بعد الجرح .

الحوادث الخلوية أو السيتولوجية قد تؤدى إلى بداية تكوين الفلين وتطور الأدمة أدت إلى الاقتراح أنها تلى زيادة انتقالية فى حامض اندول اسيتيك آسيد IAA والليبيدهيدروكسى بيروكسيد وكلاهما يصلا للمستويات القصوى بعد ٢٠ - ٣٠ دقيقة من حدوث الجروح فى درنات البطاطس (Fabbri et al., 2000) . هذا يكون متبوعاً بحدوث نشاط انقسام ميتوزى للخلايا المؤهلة لإنتاج الأدمة بدءاً من ١٢٠ دقيقة بعد حدوث الجرح . انقسام الخلايا يكون مصحوباً بزيادة ذات المرحلتين فى تخليق البروتين بعد ساعتين وحينئذ بعد ١٢ و ٢٤ ساعة بعد حدوث الجروح وكذلك زيادة فى الاكتين المبلمر وحزم الخيوط الدقيقة فى الخلايا عند موقع الجرح بعد ١٢ ساعة من حدوث الجرح .

ترسيب المركبات الأليفاتية والعطرية للسوبيرين فى الأدمة النامية وجد انها عملية منفصلة . يتراكم الفينولات العديدة للسوبيرين بداية خلال السوبرينية المحفزة بالجروح بينما تتراكم المركبات الأليفاتية للسوبيرين أخيراً وتكمل حاجز السوبيرين .

نشاط PAL الذى يعتبر مطلب ضرورى للتخليق الحيوى للمونوميرات العطرية للسوبيرين وجد يصل لنشاط انتقالى كبير بعد ١٢ ساعة من جرح درنة البطاطس ولو أنه غير مقيد على طبقات الخلايا السوبرينية حيث تم الكشف عنه فى الطبقات العميقة كذلك .

يبدأ ترسيب السوبيرين بعد ٢٤ ساعة من عمل شرائح فى درنة البطاطس (Thomas , 1982) . عندما عوملت شرائح درنة البطاطس التى شفيت من الجروح بحامض السيناميك المعلم إشعاعياً ثم حدوث أقصى امتصاص خلال اليومين الأوليين بعد حدوث الجرح ثم انخفضت بعد ذلك . لقد تم الكشف عن أعلى ترسيب لمكونات السوبيرين الفينولية على جدار الخلية بين ثلاثة وسبعة أيام من تاريخ اندمال الجرح . لذلك فقد افترض أن النشاط الكلى للبيروكسيديز يتضمن فى بلمرة الأساس العطرى وتثبيته على جدار الخلية يزداد تدريجياً فى الخلايا التى حدث فيها سوبيرينية بعد أربعة أيام من حدوث الجرح وتظل عالية بعد ذلك (Borchert , 1978) .

الأساس الفينولى للسوبيرين يحقق مواقع أسترية للمكونات الأليفاتية ومن ثم فإن بداية ترسيب المركبات الأليفاتية فى نسيج الأدمة تحدث بمجرد اكتمال ترسيب فينولات السوبيرين فى البداية والطبقة الخارجية للفلين . مع استخدام السيكلوهكساميد والاكتينومايسين D أتضح أن تخليق الحمض النووى RNA والبروتين لإنزيم w – هيدروكسى أسيد ديهيدروجينيز وهو الإنزيم المشترك فى تكوين المكونات الأليفاتية للسوبيرين والتى تحدث بين ٧٢ ، ٩٦ ساعة من حدوث الجروح . قياس تراكم المكونات الأليفاتية أظهرت زيادة منخفضة حتى خمسة أيام من حدوث الجرح يتبعها زيادة كبيرة حتى اليوم العاشر من السوبيرينية . الغرس المؤقت لمركب [I – ^{14}C] oleic aci و [I – ^{14}C] acetate فى المكونات الأليفاتية للسوبيرين التى تعضد خلال الفترة والجدولة الزمنية (Dean and Kolatdukudy , 1997) .

لذلك فإنه فى البطاطس فإن ترسيب مكونات السوبيرين تبدأ بعد يوم وحتى يومان من حدوث الجروح وتكوين النسيج الواقى الكامل بعد عشرة أيام لاحقاً . الجدول الزمنى لتراكم السوبيرين حتى تكوين الحاجز الواقى كاملاً يختلف تبعاً للطرز الجينى . لقد وجد هذا التباين كذلك فى النباتات الخشبية حيث يحدث تراكم السوبيرين فى جروح قلف الخوخ .

٥-٢- العوامل الفسيولوجية التى تحدد معدل اندمال الجروح

الجدول الزمنى لتطور حاجز الأدمة السوبيرين فى نظام أقراص درنات البطاطس الذى وصف فيما قبل تم تحديده تحت ظروف متحكم فيها ولو أن الظروف الفسيولوجية والبيئية تؤثر على كفاءة اندمال الجروح . تأثير الحرارة والرطوبة النسبية على تكوين الأدمة درس باستفاضة من منطلق العمليات الصناعية / الزراعية لعلاج أضرار القشرة فى درنات البطاطس حديثة الحصاد . أظهرت الملاحظات النسيجية التشريحية أو الهستولوجية أن تكوين الأدمة المحفز بالجرح يحدث بسرعة ملحوظة على درجة ٢٥°م بينما يتأخر اندمال الجرح على درجات الحرارة المنخفضة (١٠ – ١٥°م) بينما درجات

الحرارة العالية مثل ٣٥°م تمنع تكوين الأدمة (Morris et al, 1989) . علـــى نفــس المنوال فإنه فى اندمال جروح قلف شجرة الخوخ فإن إعادة تكوين الفلين تـــأثرت بـــشدة بواسطة درجات الحرارة وحدثت بسرعة أكبر تحت الظروف المناخية المتوسطة . هـــذا ولو أن الرطوبة العالية (٩٨%) مع درجة الحرارة الملائمة (٢٥°م) أسرعت تكوين الأدمة المحفزة بالجروح فى درنات البطاطس .

تأثير الحرارة على تكوين السوبيرين المحفز بالجروح تم تقديرها فى نظام أقـــراص درنات البطاطس بواسطة استكشاف تطور المقاومة لفقد الماء . درجة الحرارة الملائمـــة لتكوين مونوميرات السوبيرين الأليفاتة وتطور المقاومة لتوصيل بخار الماء كانت ٢٦,٤°م بينما تخليق الالكان كان ملائماً على درجة حرارة ١٨,٦°م (Dean , 1989) . درجات الحرارة المنخفضة تقلل من إنتاج مونمير السوبيرين . الاختلاف فى درجـــات الحـــرارة الملائمة لتخليق المكونات الأليفاتية للسوبيرين والشمع قد تشتق من الحـــساسية للحـــرارة لتفاعلات الحمض الدهنى ذات السلسلة الطويلة . الكربـــون فـــى الالكـــان ك٢١ يـــسود الالكانات التى وجدت على ١٩,٥°م بينما على درجة ٢٩,٤°م وجدت ثلاثة مشتقات ك٢١ ، ك ٢٣ ، ك٢٥ بنسبة متساوية (Dean,1989) . اعتماد تطور الأدمة والتخليق الحيوى للسوبيرين يعتمد على درجة الحرارة وقد وجد أن التأثير يتباين موسمياً من حيث مقـــدرة النبات على الشفاء من الضرر .

عمق الجروح يؤثر على معدل اندمال الجرح : جروح الدرنة الـــسطحية تبـــدأ فـــى الاندمال أسرع من نظيرتها العميقة (Lulai and Orr , 1995) . عمر النسيج المجروح يؤثر كذلك على عملية الاندمال . لقد أوضح البحاث أن تقدم درنات البطاطس فى العمـــر يفقدها القدرة على التئام الجروح خلال التخزين مع مقدرتها لمؤازرة إنتاج السوبراكـــسيد على سطح الجرح . لقد أقترح أن النشاط العالى لإنزيم سوبر اكسيد ميوتيز (SOD) فـــى الأنسجة الشائخة تحد من تراكم الحمض – أمينو سيكلو بروبان – ١ – كربوكسيليك آسيد (ACC) للاثيلين المحفز بالجرح . التيسر القليل لشوارد سوبراكسيد قد تؤثر لاحقاً علـــى معدل نشوء الطبقة الواقية حيث أنها مطلوبة لبلمـــرة الأســـاس العطـــرى للـــسوبيرين . بالإضافة إلى ذلك فإن الدرنات الشائخة تحقق مقدرة قليلة لزيادة نـــشاط PAL اســـتجابة للجروح والتى تحد بدرجة كبيرة من تيسر بادئات السوبيرين العطرية ولاحقاً تساهم فـــى الفقد المحفز بالعمر فى القدرة على اندمال الجروح ومقاومة مسببات الممرض النباتى .

٥–٣– التضمين الهورمونى Hormonal involvement

السوبرينية التى تقاس بواسطة مقاومة سطح النسيج لانتشار بخار الماء تثبط بواسطة تركيزات بالمليمولار من حامض IAA وتثبط بشدة بواسطة تركيزات بالميكرمولار مـــن السيتوكينين ولكنها تنشط بواسطة حمض الأبسيسيك ABA مشاركة ABA فـــى انـــدمال

الجروح لوحظ بداية عندما تحرر الهورمون فى وسط الغسيل خلال يوم واحد من قطع أقراص درنة البطاطس حيث أدت إضافة ABA إلى وسط التحضين لأقراص الدرنة المغسولة إلى انعكاس تثبيط السوبيرينية المحفزة بالغسيل . لقد أفترض عندئذ أنه خلال المرحلة الأولى من اندمال الجرح يلعب حامض ABA دوراً فى توجيه سلسلة من العمليات البيوكيميائية والتى تؤدى إلى تكوين عامل محفز بالسوبيرينية المسئول عن تحفيز الإنزيمات المشتركة فى التخليق الحيوى للسوبيرن . لقد درس تأثير ABA على السوبرينية فى مزرعة نسيج درنة البطاطس عن طريق قياس ترسيب مكونات السوبيرين . أدت المعاملة بحامض ABA إلى زيادة كلا المكونات البوليميرية العطرية والأليفاتية للسوبيرين وكذلك الايدروكربونات والكحولات الدهنية المميزة للشموع المرتبطة بسوبيرين البطاطس وبعض الإنزيمات المشتركة فى السوبرينية .

حيث أن الاثيلين من الهورمونات المعروفة جيداً استجابة للجروح (Abeles et al., 1992) فإن دوره فى السوبرينية المحفزة بالجروح فى درنة البطاطس تم فحصه على امتداد ٩ أيام لاندمال الجرح باستخدام أنواع من مثبطات التخليق الحيوى وفعل الاثيلين . نشوء الاثيلين يتم تنشيطه بواسطة الجروح ويصل لأقصاه بعد ٢ – ٣ أيام من حدوث الجرح وبعدها يبدأ فى الانخفاض تدريجياً . ولو أن الهورمون غير مطلوب لتراكم الفينولات العديدة للسوبيرين المحفزة بالجرح فى منطقة القفل (سوبيرينية الخلايا الموجودة على سطح الجرح) خلال اليومين الأوليين وحتى الأربعة أيام من اندمال الجرح أو للسوبرينية المتتابعة لخلايا الفلين (بين ٤ وحتى ٩ أيام) . ولو أن تأثيرات أحماض ABA , IAA والاثيلين تم فحصها بالنظر لعمليات السوبرينية إلا أن مشاركتها فى نشوء الأدمة من جراء حدوث الجروح مثل بدء تكوين الفلين وتنظيم الانقسام الخلوى وتقدير الفلين ومصير الفيللودرم مازالت غير واضحة .

الجدول الزمنى لتكوين الأدمة وسوبرينتها قد تختلف فى المملكة النباتية وقد تعتمد على العديد من المنشطات الفسيولوجية والبيئية ولو أن معدل ودرجة تراكم السوبيرين كانت أكثر أهمية عن العدد الفعلى لخلايا الفلين الجديدة أو سمك طبقات السوبرين الجديدة . هذا يعنى أن الأدمة كثيفة السوبيرينية تتكون من طبقات خلوية قليلة وقد تكون أكثر فاعلية كحاجز لغزو الممرضات عن الأدمة الأسمك (واحدة من طبقات خلوية أكثر) والتى تكون أقل سوبرينية (Biggs , 1989).

References

Abeles F, Morgan P, Saltveit M (1992) Ethylene in plant biology. Academic Press, London

Agrawal VP, Kolattukudy PE (1977) Biochemistry of suberization. Omega-hydroxyacid oxidation

Bakker JC (1988) Russeting (cuticle cracking) in glasshouse tomatoes in relation to fruit growth. J Hort Sci 63:459-463

Beckman CH (2000) Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? Physiol Mol Plant Pathol 57:101-110

Cottle W, Kolattukudy PE (1982b) Biosynthesis, deposition, and partial characterization of potato suberin phenolics. Plant Physiol 69:393-399

Dean BB, Kolattukudy PE (1976) Synthesis of suberin during wound-healing in jade leaves, tomato fruit, and bean pods. Plant physiol 58:411-416

Espelie KE, Sadek NZ, Kolattukudy PE (1980) Composition of suberin-associated waxes from the subterranean storage organs of 7 plants-parsnip, carrot, rutabaga, turnip, red beet, sweet potato and potato. Plant 148:468-476

Franceschi VR, Krokene P, Christiansen E, Krekling T (2005) Anatomical and chemical defenses of conifer bark beetles and other pests. New Phytol 168:353-375

Gandini A, Pascoal C, Silvestre AJD (2006) suberin: a promising renewable resource for novel macromolecular materials. Prog Pol 31:878-892

Hawkins S, Boudet A (1996) Wound-induced lignin and suberin deposition in a woody angiosperm (*Eucalyptus gunnii* Hook): histochemistry of early changes in young plants. Protoplasma 191:96-104

Held BM, Wang H, John I, Wurtele ES, Colbert JT (1993) An mRNA putatively coding for an O-methyltransferase accumulates preferentially in maize roots and is located predominantly in the region of the endodermis. Plant Physiol 102:1001-1008

Ichihara Y, Fukuda K, Suzuki K (2000) The effect of periderm formation in the cortex of *Pinus thunbergii* onearly invasion by the pinewood nematode. Forest Pathol 30:141-148

Kobayashi M, Nakagawa H, Asaka T, Matoh T (1999) Borate-rhamnogalacturonan II bonding reinforced by Ca^{2+} retains pectic polysaccharides in higher-plant cell walls. Plant Physiol 119:199-203

Lofty S, Negrel J, Javelle F (1994) Formation of w-feruloyloxypalmitic acid by an enzyme from wound-healing potato tuber discs. Phytochemistry 35:1419-1424

Major IT, Constabel CP (2006) Molecular analysis of poplar defense against herbivory: comparison of wound and insect elicitor-induced gene expression. New Phytol 172:617-635

Negrel J, Lotfy S, Javelle F (1995) Modulation of the activity of two hydroxycinnamoyl transferases in wound-healing potato tuber discs in response to pectinase or absisic acid. J Plant Physiol 146:318-322

O'Donnell PJ, Calvert C, Atzorn R, Wasternack C, Leyser HMO, Bowles DJ (1996) Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. Science 274:1914-1917

Parker CC, Parker ML, Smith AC, Waldron KW (2001) Pectin distribution at the surface of potato parenchyma cells in relation to cell-cell adhesion. J Agric Food Chem 49:4367-4371

Quiroga M, Guerrero C, Botella MA, Barcelo A, Amaga I, Medina MI, Alfonso FJ, De Forchetto SM, Tigier M, Valpnesta V (2000) A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. Plant Physiol 122:1119-1127

Razem FA, Bernards MA (2003) Reactive oxygen species production in association with suberization: evidence for an NADPH-dependent oxidase. J Exp Bot 54:935-941

Sabba RP, Lulai EC (2002) Histological analysis of the maturation of native and wound periderm in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber. Ann Bot 90:1-10

Simons RK, Chu MC (1978) Periderm morphology of mature Golden Delicious apple with special reference to russeting. Sci Hort 8:333-340

Thomson N, Evert RF, Kelman A (1995) Wound healing in whole potato tubers: a cytochemical, fluorescence, and ultrastructural analysis of cut and bruise wounds. Can J Bot 73:1436-1450

Vogt E, Schonherr J, Schmidt HW (1983) Water permeability of periderm membranes isolated enzymatically from potato tubers (*Solanum tuberosum* L). planta 158:294-301

Yan B, Stark RE (2000) Biosynthesis, molecular structure, and domain architecture of potato suberin: a ^{13}C NMR study using isotopically labeled precursors. J Agric Food Chem 48:3298-3304

Zimmermann HM, Hartman K, Schreiber L, Steudle E (2000) Chemical composition of apoplastic transport barriers in relation to radial hydraulic conductivity of corn roots (*Zea mays* L.). planta 210:302-311

ثانياً : قنيات الراتنج الجرحـى والخلايـا البرانـشيمية عديـدة الفينـولات فـى الصنوبريات

Traumatic Resin Ducts and Polyphenolic Parenchyma Cells in Conifers

الصنوبريات تتميز بتكامل الدفاعات التركيبية المتعددة والمحفزة فى تناسق من خلال استراتيجية دفاع متعدد الوسائل . الدفاعات التكوينية أو التركيبية تحـدث وتـستقر قبـل حدوث أى هجوم حيث تمثل تكلفة ثابتة ووظيفة كضمان وتأمين ضد الهجمـات المتعـذر تجنبها . الدفاعات المحفزة تتسم بالحركة استجابة لأى هجوم ومن ثم تمثل مقاومة متباينة ثم تعاود مرة أخرى عند الحاجة . خلايا البرانـشيمة عديـدة الفينوليـة (خلايـا PP) المتخصصة فى تخليق وتخزين المركبات الفينولية وهى متوفرة فى لحاء جميـع أنـواع الصنوبريات . بالإضافة لكونها مكون دفاع تركيبى متميز فإن خلايا PP تشترك كذلك فى مدى عريض من استجابات الدفاع المحفزة بما فيها تنشيط خلايا PP الموجـودة وإنتـاج خلايا PP جديدة وتكوين أدمة الجرح . وفرة وتفاوت أدوار الدفاع جعلت من خلايـا PP النوع الوحيد والأكثر أهمية فى دفاعات الصنوبريات . من وسائل الدفاع الهامة الأخـرى قنوات الراتنج الجرحى Traumatic والذى يحفز فى العديد من الصنوبريات بعد مختلف التحديات الحيوية واللا حيوية . قنوات الراتنج الجرحى تتكون بداية فى الخـشب حيـث تظهر فى خطوط عريضة أو مماسية بينما قنوات الراتنج المحفزة تتكون كذلك فى لحـاء بعض الصنوبريات . تنشيط خلايا PP وتكوين قنوات الراتنج الجرحية تحدث خلال مسار أوكتاديكانويد متضمنة تأشير بالجاسمونات والأثيلين .

P. Krokene

Norwegian Forest and Landscape Institute , N- 1432 As, Norway .

e-mail : Paal.Krokene@skogoglanskap.no

A. Sehaller (ed.), Induced Plant Resistance to Herbivory, () Springer Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

الصنوبريات تشمل ما يقارب من ٦٣٠ نوع من عاريات البذور الخشبية Gymnosperms ذات الانتشار الواسع من القطب الشمالى وخطوط مرتفعات الألب وحتى الغابات الاستوائية (Farjon , 2001) . مع هذا فإن الصنوبريات من الأنواع شديدة الفقر بالمقارنة بتنوع الأنواع العديدة من كاسيات البذور Angiosperms ولكن الصنوبريات الموجودة حالياً تعتبر من النباتات الناجحة من مفاهيم متعددة . العديد من الأنواع تعتبر من النباتات السائدة فى مساحات مهولة وتعتبر من أشجار الغابات الكبرى ذات القيمة الايكولوجية والاقتصادية الكبيرة . الصنوبريات تنمو بطول كبير ومتانة وتعمر أكثر من أية أشجار أخرى ومن الأمثلة الواضحة شجرة الخشب الأحمر Sequoia sempervirens (١١٥,٦ متر فى الطول) وشجرة Montezuma cypress (١١,٤ متر فى القطر) وشجرة الصنوبر Pinus lounges (٤٨,٤٤ سنة) . من الناحية التقسيمية فإن الصنوبريات تشمل القسم Pinophyta الذى يتضمن قسم واحد هو Pinopsida والذى يحتوى على رتبة مفردة ثابتة هى Pinales or coniferales . النوع الأكثر غنى وأوسع انتشار جغرافى من بين السبعة أو الثمانية عائلات المميزة لرتبة Pinales هو Pinaceae الذى يضم حوالى ٢٢٥ نوع بما فيها أشجار الغابات فى نصف الكرة الأرضية الشمالى فى الأجناس Apies , Larix , picea , Pinus . من العائلات الأخرى الهامة من الصنوبريات Cupressaceae (من ١٣٥ نوع) و Podocarpaceae (من ١٨٥ نوع) و Araucariacea (٤١ نوع) وجميعها تشمل العديد من الأنواع الأستوائية وتلك الأنواع السائدة فى نصف الكرة الأرضية الجنوبى .

مفتاح نجاح الصنوبريات يتمثل فى استراتيجيات الدفاع الفعالة لها والتى تمكنها من الدفاع عن مهاجميها على امتداد ما يزيد على ٢٠٠ مليون سنة من تاريخية الوراثة النباتية Phylogcnetic . النباتات طويلة العمر مثل الصنوبريات ارتبطت بوجود الأعداء الطبيعية خلال الزمن الايكولوجى ومن ثم تحتاج لمدى عريض من الدفاعات الفعالة ضد الأعداء الخاصة والعامة (Feeny , 1976) . هذا تحقق بواسطة تكامل الدفاعات التركيبية والمحفزة فى تناسق ومن خلال استراتيجية دفاع متعددة الوسائل (Franceschi et al., 2005) . الدفاعات التركيبية كما هو الحال مع فلين القلف والراتنج المتكون فى السابق والفينولات تعمل كخط دفاع أول يثبط أو يبطىء من الهجوم الابتدائى وإذا لم يكن ذلك كافياً تتحرك الدفاعات المحفزة لقتل أو احتواء المهاجمين . التكامل الزمانى والمكانى للدفاعات التركيبية والمحفزة يحتمل أن تساهم فى خفض التكاليف الكلية للدفاع . يمكن تمييز نوعين من الدفاعات المحفزة فى الصنوبريات بناء على مستوى التعقيد فى التنظيم الخاص بها . على المستوى الأبسط تنتج استجابات الدفاع نتيجة لتغيير فى تمثيل الخلايا الموجودة مثل اللجننة فى جدر الخلايا وتحفيز إنتاج الراتنج فى قنوات الراتنج سابقة

التكوين وتنشيط الاستجابة كفرط الحساسية . على مستوى التنظيم الأكثر تعقيداً توجد استجابات الدفاع المحفزة التى تتضمن التغيرات فى انقسام وتفرق الخلية مما يؤدى إلى تكوين قنوات الراتنج الجرحية وأدمة الجرح .

الدفاعات التركيبية والمحفزة فى الصنوبريات قد تكون ذات طبيعة ميكانيكية وكيميائية. الدفاعات الميكانيكية تتكون من عناص تركيبية والتي تحقق خشونة أو سمك فى الأنسجة ومن ثم تتداخل مع النفاذية والهدم بواسطة المهاجمين . الدفاعات الميكانيكية البارزة فى سوق الصنوبريات تشمل حاجز الدفاع الخارجى (الأدمة وقلف الفلين) والعناصر الخشنة للحاء (سكليرنشيما وبلورات اكسالات الكالسيوم) وتغليف النسيج بالبوليمرات (مثل اللجنينات والسوبيرين) . الدفاعات الكيميائية تشمل المواد ذات التأثيرات السامة أو المرتبطة مثل الألليلوكيميائيات والبروتينات والإنزيمات . الدفاعات الكيميائية فى الصنوبريات فى الغالب تتكون من حزم من الكيميائيات المخزنة (مثل الفينولات والتربينويدز) التى تنطلق بعد الهجوم . يوجد تداخل واضح بين الطرق المختلفة لتقسيم الدفاعات فى الصنوبريات حيث أن نفس وسائل الدفاع قد تشمل الوسائل الكيميائية والميكانيكية وقد يعبر عنها بالدفاعات التركيبية والمحفزة . الراتنج كمثال يعتبر مكون دفاع هام وكبير فى العديد من الصنوبريات وهو ينتج تركيبياً ويخزن فى قنوات الراتنج سابقة التكوين ولكن إنتاجه يمكن أن يحفز كذلك فى قنوات الراتنج سابقة التكوين (Ruel et al., 1998) أو فى قنوات الراتنج المحفزة الجرحية . لقد اتضح بعد ذلك أن الراتنج سام كيميائياً للحشرات والفطريات كما أن له خصائص دفاع ميكانيكية بواسطة التأثير اللاصق والعضو تحت ضغط عندما يهاجم الكائنات التى تخترق القلف .

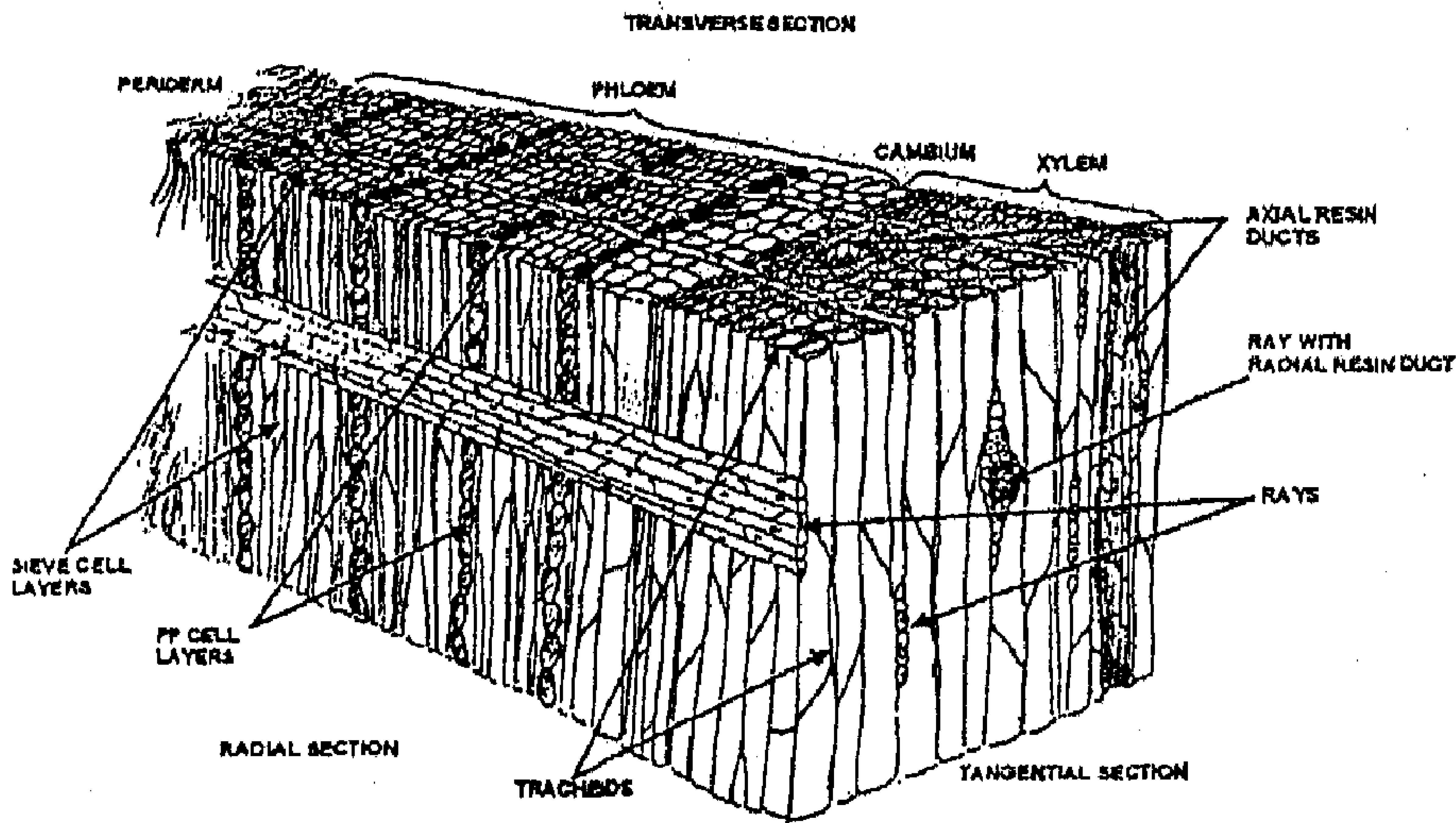
فى هذا المقام سوف نتناول اثنان من مكونات الدفاع الهامة من الناحيتين التشريحية والكيميائية للقلف والخشب الغض فى الصنوبريات . خلايا البرانشيمة ذات المحتوى المتميز من الفينولات العديدة تحدث فى قلف جميع الصنوبريات وهى من أكثر الخلايا الحية وفرة للماء الثانوى . هذه الخلايا البرانشيمية عديدة الفينولات (خلايا PP) متخصصة فى تخليق وتخزين المركبات الفينولية وبسبب محدودية الحدوث والأدوار الدفاعية المتفاوتة فإنه ينظر إليها كنوع خلية منفرد أكثر أهمية فى دفاعات الصنوبريات . خلايا PP تنتج خلال تطور اللحاء العادى ولكن تحدث تغيرات مكثفة استجابة للهجوم ومن ثم تعتبر موقع هام لكلا الدفاعات التركيبية والمحفزة . هناك مكون دفاعى هام آخر فى الصنوبريات يتمثل فى تركيبات مختلفة للراتنج والتى قد توجد تركيبياً أو تحفز فى القلف والخشب الغض للعديد من الأنواع . فى هذا المقام سوف نركز على قنوات الراتنج الجرحية (TRDs) والتى كما يشير الاسم تحفز بعد تحديات حيوية أو لا حيوية TRD's توجد فى الخشب حيث تظهر كخطوط عرضية ولكن قنوات الراتنج المحفز تتكون كذلك فى لحاء بعض الصنوبريات . تحفيز خلايا PP , TRD's ترتبط بظاهرة المقاومة

الجهازية المحفزة والتى وضعت فى عدد قليل فقط من عائلــة Pinaceae ولكنهــا يبــدو وجودها بشكل عريض فى الصنوبريات .

٢- خلايا البرانشيمية عديدة الفينولات PP

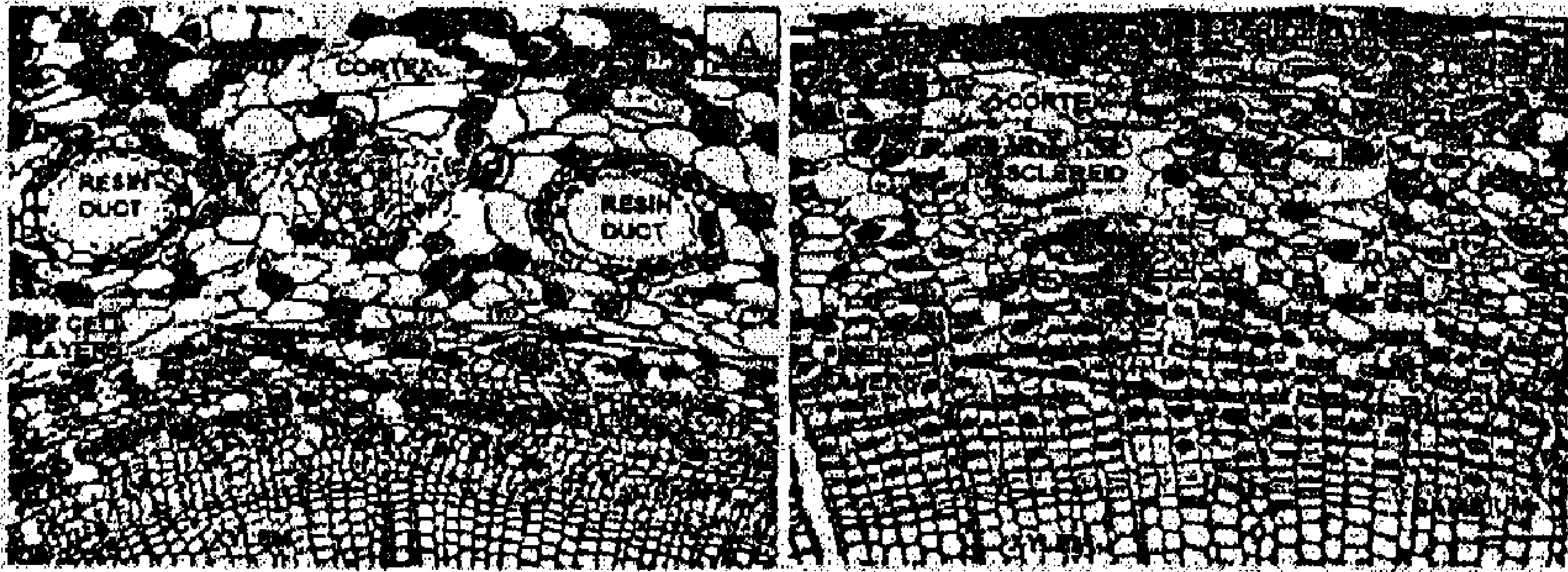
٢-١- تشريحية وتطور خلايا PP

يبدو أن خلايا البرانشيمة متعددة الفينولات تلعب دوراً بارزاً فــى دفــاع عــائلات الصنوبريات التى درست (Hudgins et al., 2003) (الــشكل ٥-٢) . إذا أخــذ فــى الاعتبار وفرتها وأهميتها فى قلف شجرة الصنوبر فإنه مما يثير الدهشة قلة ما نشر عــن تركيبها ووظيفتها حتى عام ١٩٩٨ عندما نشر الباحث Franceschi ومعاونوه أول سلسلة من الإصدارات عن تشريحية وتطور وأدوار خلايا PP فى الدفاعات التركيبية والتحفيزية . شجرة البيسية النرويجية اتخذت كنموذج فى معظم هذه البحــوث والدراســات ولكــن الدراسات على صنوبريات عائلات أخرى مثل Cupressactae و Podocatpacaae و Araucariacene و Taxaceae أظهرت الأهمية العامة لخلايا PP فى دفاعات أشــجار الصنوبر .

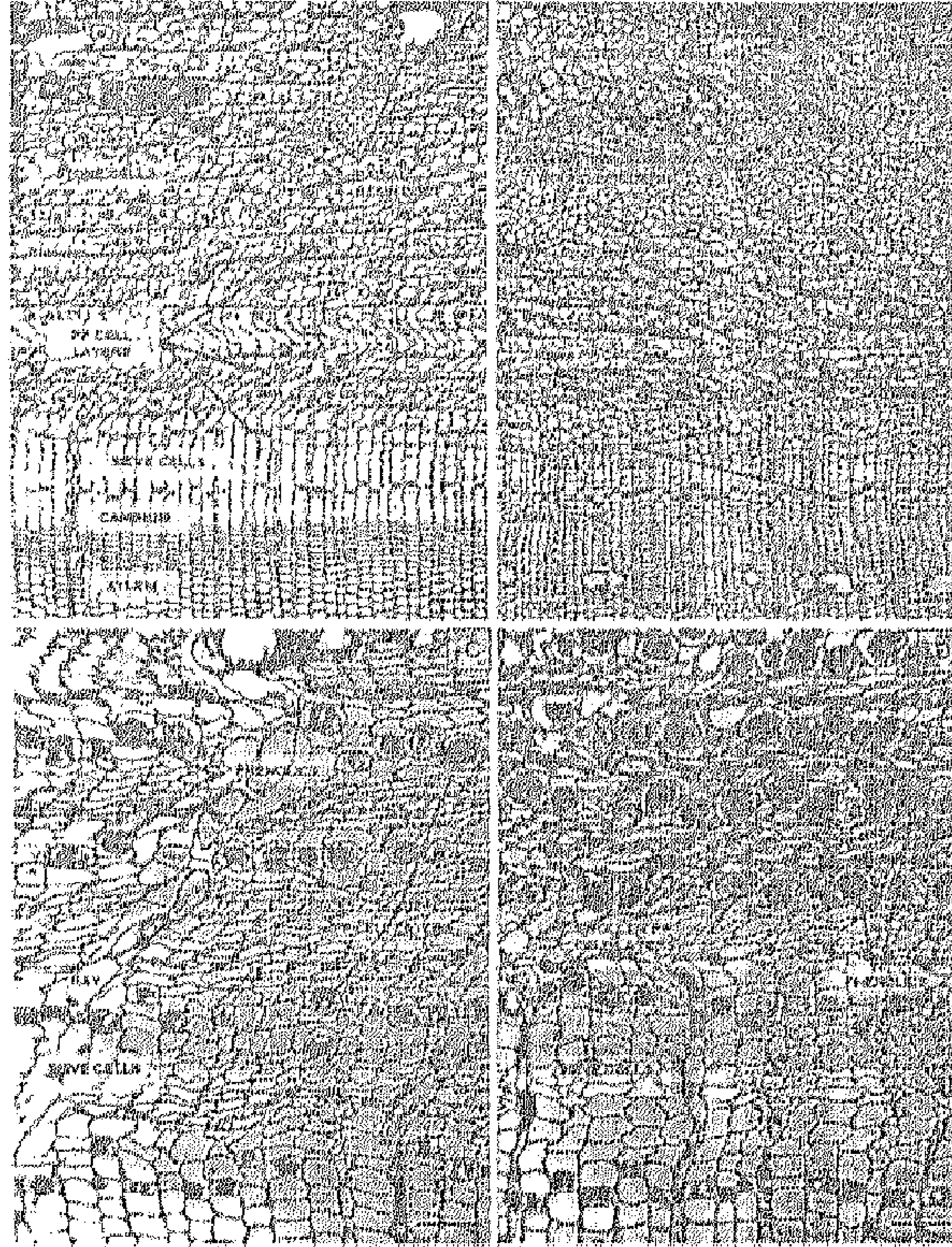


شكل (٥-٢) : رسم ثلاثى الأبعاد يوضح تشريحية القلف الأساسى والخشب الغض فــى سوق الصنوبريات باستخدام شجرة البيسية النرويجى كمثال . الخصائص المميزة تتمثل فى الطبقات العديدة المركزية للتراكيب الدفاعية فى القلــف بما فيها طبقات الأدمة وخلايا البرانشيمية عديدة الفينول والخشب الغــض مع قنوات الراتنج المحورية والقطرية .

أظهر الفحص الميكروسكوبى لقلف أشجار الصنوبر أن الدفاعات توجد وتتمركز فى المركز فى تصميم متعدد الطبقات حول الكامبيوم الوعائى . هذا واضح فى عائلة Pinaceae حيث أن خلايا PP تنظم خطوط مركزية متميزة Concentric rows (عرض خلية واحدة) فى اللحاء الثانوى مفصولة بواسطة ٩ - ١٢ خط من خلايا الغربلة وتربط خلايا الألبيومين التى تنتشر داخلياً مع قليل من خلايا برانشيسكلاريديس أو الخلايا الحجرية (الشكل ١٠٥ ، ٢٠٥ ، A) . فى صنوبريات المناطق المعتدلة فإن اسطوانات خلايا PP تكون حلقات سنوية فى اللحاء حيث أن خط جديد يتكون مع بداية كل موسم نمو. التوجه عمودياً نحو خلايا PP الموجهة عرضياً يحدث امتداد للخطوط القطرية من اللحاء الثانوى فى الخشب . جوارا للكامبيوم فإنها تكون فى العادة فى سلاسل عديدة فى الأجزاء الشائخة من اللحاء مع قناة راتنج قطرية مركزية (Krekling et al., 2000) (الشكل ٥-٤ A) .



شكل (٥-٣) : قطاعات عرضية توضح التنظيم المركزى للأنسجة فى القلف (القشرة واللحاء الثانوى) وفى الخشب لنوعين من الصنوبريات . (A) تمثل ساق صغير من البلسم فير تمثل تشريحية اللحاء من النوع Pinaceae طبقتان سنويتان من البرانشيمية متعددة الفينولات للخلايا (P) مفصولة بواسطة طبقة أسمك من الخلايا الغربالية . قنوات الراتنج المحورية الكبيرة وجدت فى القشرة . (B) ساق صغير للصنوبر بالدسيبريس يوضح تشريحية اللحاء غير المطابق للعائلة Pinaceae مع خطوط بديلة لخلايا الألياف مفصولة بواسطة طبقات رقيقة من الخلايا الغربالية . كلا خلايا PP والخلايا الليفية تستقر فى الطبقات السنوية مع خط واحد من الخلايا لكل سنة (١٠٠ ميكروميتر) .



شكل (٥-٤) : قطاعات عرضية للحاء الثانوى للصنوبر النرويجى Picea albies يوضح تشريحية وتنظيم البرانشيمة متعددة الفينولات للخلايا PP . (A) قطاع عرضى من شجرة المقارنة توضح النسيج العادى والتركيبى مع الطبقات المركزية لخلايا PP مفصولة بواسطة خلايا غربالية . قناة راتنج قطرية كبيرة فى داخل سلاسل متعددة الخطوط تعبر اللحاء والخشب. عناقيد الخلايا الحجرية كثيفة اللجننة تتوزع عشوائياً فى الأجزاء القديمة من اللحاء . خلايا الاسكليرنشيمية هذه تشتق من خلايا PP مع تقدم اللحاء فى العمر . الحاجز ١٠٠ ميكرومتر . (B) قطاع عرضى يوضح تحفيز تكوين الأدمة بالجرح وخلايا PP فى القلف بعد العدوى بالفطر أزرق الصبغة . أدمة الجرح تتكون من الخلايا السوبيرينية واللجنينية تحت أدمة الجرح القريبة من الكامبيوم يحدث تكبير وتضخيم فى خلايا PP بسبب حركة محتوى فجوات الفينولات العديدة حيث أن خلايا PP فى المنطقة اللصيقة بأدمة الجرح التى تفرغ محتوياتها . قناة الراتنج الجرحى تتكون تحفيزياً فى الخشب . الحاجز ١٠٠ ميكرومتر . (C) أكبر تكبير للطبقات السنوية العادية غير المنشطة لخلايا PP فى القلب . تظهر أربعة صفوف سنوية من خلايا PP مفصولة بواسطة ١٠ – ١٢ طبقة من الخلايا الغربالية . الحاجز ٥٠ ميكرومتر . (D) التكبير الضخم للقلف بعد ٣ أسابيع من العدوى بالفطر سيراتوسيستس مولونيكا يوضح أن خلايا PP التى تحرك محتواها من الفينول وتزيد فى الحجم . الخلايا الغربالية القديمة تضغط فى مناطق كثيفة من جدر الخلايا بواسطة خلايا PP المنتفخة .

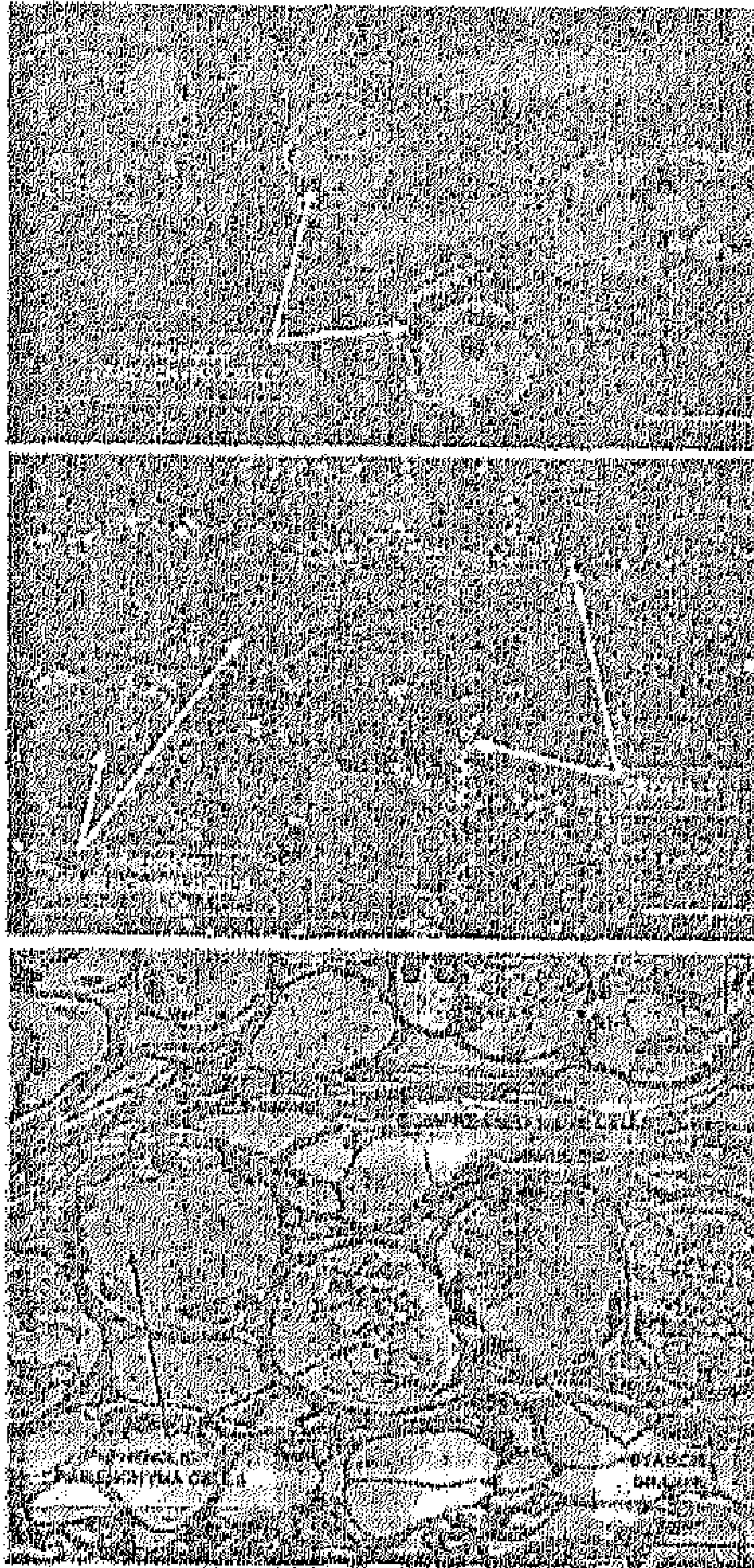
فى الصنوبريات غير عائلة Pinaceae فإن خلايا PP والأشعة تنظم فى تشابه ولكن الرصات المتداخلة للخلايا الغربالية عبارة عن قليل من صفوف الخلايا السميكة (الشكل ٥ – ٥ B) والتى تقطع طبيعياً بواسطة صف مركزى كامل من خلايا الاسكليرنشيمية الليفية (شكل ٥–٢ B) . خلايا الألياف تملك جدار ثانوى لجنينى سميك ويعمل كعناصر تركيبية وكوسيلة دفاع ميكانيكية (Hudgins et al. 2003a , 2004) . الترتيب عالى النظام لصفوف الألياف كثيفة القراعات وخلايا PP يحتمل أن تكون حاجز طبيعى هائل للكائنات التى تحاول اختراق اللحاء . الخلايا الليفية تتطور من الخلايا البادئة التى تتميز عن خلايا PP وتتطلب فى العادة ٢ – ٣ سنوات كى تصبح كاملة اللجننة .

أهمية خلايا PP فى دفاع الصنوبريات اتضحت من جراء الحقائق التى تشير إلى إنتاجها مبكراً فى كلا مراحل النمو الأولية والثانوية وأن مصادرها الهامة تستخدم فى تطورها وصيانتها . خلايا PP تنتج بواسطة الكامبيوم البينى خلال المراحل المبكرة من النمو الأولى فى الصنوبر النرويجى وبواسطة السنة الثانية للنمو يحدث الإنتاج المنتظم لخلايا PP (الشكل ٥–٣ A) . فى الظروف المناخية الموسمية تتكون طبقة سنوية جديدة من خلايا PP حال بدء نشاط الكامبيوم بعد الكمون الشتوى عند بداية كل موسم نمو من طبقة خلايا غير متشكلة (Krekling et al., 2000) . من المثير للاهتمام أن طبقة خلايا PP الجديدة تنتج كذلك بعد الخلل الكبير الآخر فى نشاط الكامبيوم فى صنوبر النرويج مثل ما يحدث من هجوم الممرض (Krokene et al.2003) .

نضج خلايا PP عملية بطيئة قد تستغرق ٥ سنوات أو أكثر فى صنوبر النرويج . خلال هذه العملية تزداد الخلية فى الحجم وبالتدريج تصبح مستديرة ويزداد جدر الخلية فى السمك والمكونات الفينولية تصبح أكثر كثافة . خلايا PP الإضافية قد تتطور من خلايا برانشيمية غير متشكلة فيما بين الطبقات السنوية المنتظمة خلال السنوات الخمسة الأولى وحتى الثامنة بعد التكوين . فى تتابع للزيادة التدريجية فى حجم خلية PP خلال النضج فإن الخلايا الغربالية المحيطة تتكسر بالتقدم وتتكتل وتصبح غير فعالة وظيفياً (الشكل ٥ – ٣ A و C) . صفوف خلايا PP تعيش لسنوات عديدة حية ومع هذا فإن الصنوبر النرويجى فى الأشجار بعمر ١٠٠ سنة وجد أن صفوف خلايا PP التى تكونت منذ ٧٠ عاماً مضت كانت تحتوى على خلايا حية . خلايا PP فى طبقات اللحاء القديمة قد تدخل فى الانقسام وهذا يمكن الشجرة من صيانة الطبقات السليمة من خلايا PP مع زيادة قطر الساق خلال النمو . بالإضافة إلى ذلك فإن خلايا PP الجديدة تتجدد وتتعافى فى الطبقات

الشائخة للحاء الثانوى بواسطة تشكل خلايا البرانشيمية الباقية الموجودة أو مشتقات الخلايا الشعاعية (Fan , 1990 , Krekling et al 200 .

المادة الفينولية التى تميز خلايا PP تخزن فى داخل تجويف كبير الذى قد يملأ كل حجم الخلية (المكون أو الجسم الفينولى) . الطبيعة الفينولية لخلايا PP يستدل عليها من لونها الفلوروسينى المصفر البراق عندما تتعرض للضوء الأزرق (٤٥٠ – ٤٩٠ نانوميتر – الشكل ٥–٥ A) والصبغ الشديد (وخمد الفلوروسينس) بواسطة أوزميوم تتروكسيد وطريقة شف مع الحامض الدورى (الشكل ٥–٤) ووجود إنزيم فينيل الانين أمونيا ليبز (PAL) وهو الإنزيم الفاتح فى تخليق الفينولات . محتوى التجويف فى خلايا PP ذات حركية عالية ويتغير فى المظهر على امتداد العام وكذلك بعد هجوم الممرض أو حدوث الجروح ميكانيكيا (الشكل ٥ – ٤ D) .



شكل (٥–٥) : تكبير ضخم لخلايا البرانشيمة عديدة الفينول (PP) . خلايا PP تسمى بعد تضمين مكوناتها الفينولية الفجوية التى تغطى معظم حجم الخلية . (A) المادة الفينولية العديدة تبعث وميض مميز وفلوريسنس مصفر عندما تضاء بالضوء الأزرق (٤٥٠ – ٤٩٠ نانوميتر) . (B) خلايا PP فى صنوبر الباسفيك كما يظهر فى الميكروسكوب SEM فى الفعل الخلفى المنتشر مما يوضح كيف أن جدر الخلايا تشكل قشرة مع بلورات اكسالات الكالسيوم الخلوية . البللورات الخلوية فائقة الصغر تميز الصنوبريات بخلاف Pinaceae على عكس أنواع Pinacea التى فيها بلورات خلوية داخلية أكبر . (C) خلايا PP

تخزن حبيبات النشا فى السيتوبلازم وهى مرئية بوضوح بعد الصبغ مـع الكربوهيـدرات بالأحماض فى طريقة شيف . الحاجز ٢٥ ميكرومتر .

فى الصنوبر النرويجى فإن كثافة المكون الفينولى تزداد خـلال الخريـف وتظهـر مصبوغة بكثافة وجيبة بحلول منتصف الشتاء . خلال الربيع والصيف تتناقص الكثافة مرة أخرى وتعود متجانسة وتظهر الصبغة خفيفة فى منتصف الصيف . لقد أجريت محاولات عديدة لتقسيم خلايا PP فى أربعة أنواع بناء على مظهر محتوى الفجوات ولكن أى علاقة بين مورفولوجى التجاويف والمقاومة مازالت غير واضحة .

بالإضافة إلى كونها مخزن رئيسى للمركبات الفينولية فإن خلايا PP تراكم وتخـزن الكربوهيدرات كذلك فى صورة حبيبات نشا وليبيدات (الشكل ٥-٥ C) . النشا يتكـون باضطراد خلال شهور الصيف فى صنوبر النرويج وتغيب تماماً فى الشتاء ثم تتراكم ثانية فى الربيع (Krekling et al., 2000) . بالإضافة بعملها كاحتياطى للطاقة فإن النـشا والليبيدات فى خلايا PP يمكن أن تستخدم كذلك فى التخليق السريع للكيميائيات الدفاعيـة استجابة للهجوم .

حيث أن خلايا PP والخلايا الشعاعية تكون غالبية الخلايا الحية فـى اللحـاء فإنـه يحتمل أن تشترك فى النقل القطرى والمحيطى للإشارات التى تنشط استجابات الـدفاع . تواكبا مع هذه الملحوظة يوجد كم هائل من ارتباطـات الخلايـا (Plasmodesmeta) Symplasmic مما يسهل من نقل الجزيئات الإشارية والمغذيات بين خلايـا PP وبـين الخلايا الإشعاعية وخلايا PP المجاورة وبـين الخلايـا الإشـعاعية (Krekling et al. 2000) .

خلايا PP تشترك أيضاً فى إنتاج وسائل الدفاع الميكانيكية الهامة التى توجـد فـى اللحاء الثانوى لجميع الصنوبريات . توزيع الخلايا الحجرية (سـكليريدس Sclereids) فى اللحاء الثانوى للصنوبر النرويجى أدى إلى الاقتراح بأن هذه الخلايا تنشأ مـن خلايـا PP (Franceschi et al., 2005) . الخلايا الحجرية ضخمة وغير منتظمة الشكل مـع جدر خلايا مللجننة سميكة تحدث على صورة خلايا فردية أو فى عناقيد فى جميع أنـواع العائلة Pinaceac بالإضافة إلى Araucaria . بسبب خشونتها الطبيعيـة فـإن الخلايـا الحجرية يمكن أن تكون طاردة للكائنات التى تثقـب القلـف . فـى خلايـا PP الهائلـة Pinaceae المحورة فإنه وجد أنها تنتج بلورات اكسالات الكالسيوم التى تميل للتداخل مع اختراق القلف كذلك (الشكل ٥-٥ B) . على خلاف خلايا PP العادية فإن هذه الخلايـا المحورة تموت عند النضج وتملك جدر خلوية سوبيرينية . بللورات اكسالات الكالسيوم قد تحدث كذلك فى فجوات بعض خلايا PP عل امتداد المادة الفينولية (Franeeschi et al., 1998)

٢-٢ - الاستجابات المحفزة فى خلايا PP

بالإضافة إلى كونها مكون تركيبى كبير فى اللحاء الثانوى فإن خلايا PP تشترك فى مدى عريض من استجابات الدفاع المحفزة بما فيها تنشيط الخلايا الموجودة وإنتاج خلايا PP إضافية وتكوين أدمة بسبب الجرح . تنشيط أو انتفاخ خلايا PP الموجودة تبدأ بعد أيام قليلة من الهجوم وتؤدى إلى زيادة ٤ أمثال فى حجم خلية PP وتغيير فى مظهر المحتوى الفينولى (الشكل ٥-٤) . الزيادة الرهيبة فى حجم خلية PP تؤدى إلى انضغاط مكثف للخلايا الغربالية المحيطة وعلى الأقل فى صنوبريات عائلة Pinaceae التى تنتج العديد من طبقات الخلايا الغربالية كل سنة ويتحول اللحاء المحفز إلى وحدات أو كتل كثيفة من جدر الخلايا المفصولة بواسطة طبقات من خلايا PP المنتفخة (الشكل ٥-٤ B , D) . بالإضافة إلى دورها كحاجز طبيعى لاختراق الكائنات الغازية فإن دمج جدار الخلية مع حاجز خلايا PP يبدو أنه يعاد تعضيده بواسطة الفينولات التى تنفرد من خلايا PP المحفزة وتترسب فى جدر الخلايا الغربالية المحيطة .

خلايا PP الجديدة أو الإضافية قد تحفز كى تتطور أو تنشأ من خلايا برانشيمية غير متشكلة فيما بين طبقات PP السنوية المنتظمة . هذا ليس جزء من برنامج التطور العادى للحاء الثانوى ولكنه يرى فقط بعد التحديات الشديدة كما هو الحال مع عدوى فطرية مكثفة. إنتاج خلايا PP إضافية قد تحفز كذلك بواسطة المعاملة بالمثيل جسمونات وهو محفز لاستجابات الدفاع فى النبات والتى تحفز استجابات متشابهة كما هو الحال مع الممرضات الفطرية والحشرات فى الصنوبريات . مع مرور الوقت فإن خلايا PP الإضافية تظهر على بعد سنتيمترات عديدة من نقطة التحفيز وتصبح متوفرة تغطى ٥٠% من محيط اللحاء فى الصنوبر النرويجى بعد ١٥ يوم من العدوى الفطرية الكثيفة . بسبب أن تشكل خلايا PP الإضافية عملية بطيئة نسبياً بالمقارنة بتنشيط الخلايا الموجودة فإن هناك احتمال بدور فى تحفيز المقاومة على المدى الطويل عما هو الحال مع تحقيق المقاومة بمجرد حدوث الهجوم . يبدو أن إنتاج خلايا PP الإضافية مشترك فى ظاهرة المقاومة الجهازية المحفزة فى صنوبر النرويج .

خلايا PP لها دور جهازى فى تكوين أدمة الجرح . هذا جزء ضرورى لتحقيق الدفاع فى أشجار الصنوبر حيث أنها تعمل فى احتواء المناطق المضارة وتعيد إنشاء حاجز سطح مستمر . الأدمات التى تنتج من الجروح تنتج بواسطة تنشيط خلايا PP الموجودة والتى تبدأ فى الانقسام لتكوين فلين من الجرح أو كامبيوم الفلين (الشكل ٥-٤ B) . على غرار الأدمة العادية فإن هذا المرستيم ينتج نسيج الفلين (الفلين فى الخارج بينما ينتج الفللوديرم فى الداخل ومن ثم يعيد تكوين حاجز السطح باستمرار . الأنسجة

التالفة خارج هذه الأدمة الجديدة تكون معزولة من إمدادات الغذاء من خلال اللحاء الثانوى وتحجب على صورة لحاء جديد ينتج بواسطة الكامبيوم الوعائى .

٢-٣- دليل عن الأدوار الدفاعية لخلايا PP

التنظيم التشريحى والطبيعة الكيميائية والاستجابات المحفزة لخلايا PP أدت إلى الاقتراح بأن هذه الخلايا هامة فى تحقيق المقاومة ضد هجوم الآفات . الدور الدفاعى لخلايا PP يعضد بواسطة تجارب العدوى بخنفساء القلف والعدوى بفطر الصبغة الزرقاء حيث أتضح أن مقاومة الأشجار تطورت فى توازى مع الوقت المطلوب لتنشيط خلايا PP. الأشجار التى عوملت بعدوى غير قاتلة من الفطر قبل ٣ - ٩ أسابيع من العدوى الصناعية الكثيفة أظهرت نشاط قوى لخلايا PP وكانت أكثر مقاومة للتحديات اللاحقة عما هو الحال مع الأشجار غير المعاملة . الأشجار التى عوملت قبل أسبوع واحد من العدوى المكثفة لم تظهر أى تنشيط لخلايا PP وكانت حساسة كما فى الأشجار غير المعاملة . فى هذه التجربة فإن حاجز خلايا PP التكوينية كان دائراً حيث أن الفطر الذى تم حقنه صناعياً فى الجروح سلك جميع الطرق نحو الكامبيوم الوعائى . عندما تم حقن الفطر فى جروح القلف السطحية حتى ينتهى الحقن فى منتصف طبقات خلايا PP تم حدوث تقييد كامل لنمو الفطر مما يؤكد على دور فى الدفاع لخلايا PP التكوينية والمتمركزة فى المركز . العديد من فطريات الصبغة الزرقاء تمثل ممرضات ناجحة للصنوبريات لأنها تطوق دفاعات القلف عن طريق عمل طريق لحركة خنافس القلف Scolytid فى أنفاق خلال القلف إلى الكامبيوم الوعائى (Paine et al., 1997) .

الطبيعة الكيميائية الحقيقية للمادة الفينولية داخل خلايا PP غير معروفة . الاستنتاج بأن المادة ذات طبيعة عديدة الفينول تعتمد على الدليل الميكروسكوبى مثل التشابه التركيبى للفينولات العديدة فى أنواع الخلايا النباتية الأخرى وكذلك على الفلوروسينية الذاتية وخصائص الصبغ وموضع PAL فى غشاء البلازما وسيتوبلازم خلايا PP بواسطة موضع المناعة . من الإنزيمات الهامة الأخرى المشتركة فى تخليق الفينول مثل كالكون وستيليبين سينسز وجد كذلك أنها تزيد فى التركيز فى قلف شجرة الصنوبر بعد العدوى بالفطر مما يوضح دور للفينولات فى دفاعات القلف . أظهرت العديد من التحاليل الكيميائية المباشرة العديدة للحاء أشجار الصنوبر وجود تركيزات عالية من الفينولات الذائبة مثل الفلافوتويدز والاستيليبينز (Zeneil et al., 2006) . هذا ولو أن الفينولات

الذائبة التى توجه نفسها للتحليل الكيميائى الروتينى لا يبدو أنها محددة أو مؤثرة فى الدفاع لأنها تحفز ببطء فقط بواسطة العدوى بالفطر وحدوث الجروح ميكانيكياً وهجوم خنافس القلف . تنشيط خلايا PP قد يرتبط بالتغيرات فى كثير من الفينولات المعقدة مثل التانينات المكثفة ذات الوزن الجزيئى العالى الفينولات المرتبطة بجدار الخلية ولكن هذه لم تختبر .

٣- قنوات الراتنج الجرحى Traumatic Resin ducts

٣-١- الدفاعات المعتمدة على الراتنج فى الصنوبريات

يتكون راتنج الصنوبر لحد كبير من التربينات التى تتركب فى الأساس من التربينات الأحادية (ك١٠) والتربينات الثنائية (ك ٢٠) مع كميات صغيرة من سيسكويتربينات (ك ١٥) وغيرها من المركبات . يعتبر الراتنج بوجه عام فى نظام الدفاع فى الصنوبريات بسبب خواصه الطبيعية وتأثيراته السامة والطاردة على العديد من آكلات الأعشاب والممرضات . راتنج الصنوبريات يخلق ويتراكم فى تراكيب افرازية خاصة لتعقيدات تشريحية مختلفة تتراوح من خلايا الراتنج الفردية المتفرقة وتجاويف الراتنج شبيهة بالجراب المبطن بالخلايا الطلائية وحتى شبكات معقدة من قنوات الراتنج القطرية والمحورية المرتبطة داخلياً . تراكيب الراتنج هذه قد توجد تركيبياً أو قد تكون محفزة وتوجد فى العديد من الأنسجة المختلفة بما فيها الخشب واللحاء والقشرة والزوائد .

لقد وجدت التراكيب المنتجة للراتنج فى العديد من ذرات الصنوبر ولكنها لا تتساوى فى الأهمية . فى الحقيقة فإن معظم الصنوبريات فى العائلات Araucariaceae , Podocarpaceae , Cupressaceae , Taxaceae , Cephelotaxaceae (وهى ليست عائلة Pinaceae) تعانى من نقص تراكيب الراتنج سابقة التكوين فى اللحاء والخشب . Bannan , (Fahn , 1979) وتراكيب الراتنج المحفزة تظهر فقط فى بعض الأجناس (الجدول ٥-١) . بدلاً من ذلك فإن الأنواع غير Pinaceae يبدو أنها تعتمد على دفاعات القلف التركيبية الكثيفة فى صورة خلايا PP وخلايا ليفية مللجننة . لقد تأكد من حقيقة أن صنوبريات عائلة Pinaceae التى تعتمد على الدفاعات المرتبطة بالراتنج أكثر حساسية لخنافس القلف القاتلة للشجرة (عائلة Scolytidae) بالمقارنة بالأنواع فى مجموعة غير Pinaceae والتى نادراً ما تعانى من هجوم خنفساء القلف (Hudgins et al., 2004) . خصوصية خنافس القلف القاتلة على الصنوبريات المنتجة للراتنج تتضمن استخدام الراتنج كبادىء لإنتاج الفورمونات التى تجمع مجموع الحشرات وفورمونات التجمع الفعالة يحتمل أن تكون ضرورية لقتل الشجرة حيث أن آكلات النباتات مثل خنافس القلف يجب أن تهاجم فى أعداء كبيرة حتى تحدث التلف وتقتل الأشجار العائل الكبيرة .

خنافس القلف توضح كيف أن النشوء المرافق بين آكلات النباتات الحشرية وأشجار العائل قد تحول الدفاع فى اتجاه الضعف . مازال معروف حتى الآن أن معظم الصنوبريات من Pinaceae وغيرها تدافع عن نفسها جيداً ضد خنافس القلف فإن هــذه الاســتراتيجيات المعاكسة تعطى مثال عن الاختلافات الكبيرة فى استراتيجيات الدفاع ضد نفس الآفة .

تراكيب الراتنج التكوينية توجد فى قشرة ولحاء معظم عائلة Pinaceae وقليل مــن صنوبريات غير Pinaceae وفى العادة فى صورة قنوات وتجاويف راتنج (الشكل ٥-٦، جدول ٥-١) . بالإضافة إلى ذلك فإن العديد من أنواع Pinacea ذات قنــوات راتــنج تكوينية متفرقة فى الخشب العادى (جدول ٥-١) . قنوات الراتنج المحورية فى القــشرة (الجزء الخارجى لقلف الساق الصغيرة) قد يكون كبيراً جداً بالمقارنة بقنــوات الــراتنج الأخرى (الأشكال ٥-٣ A ، ٥-٦ A) . تتكون هذه القنوات فى حلقة محيطية بمــا أن القشرة تتكون خلال التطور الأولى للساق وقد توجد فيما لا يقل عن ٢٥ سنة فى الصنوبر النرويجى (Christiansen et al. 1999) . القشرة حاجز دفاع هــام فــى المراحــل المبكرة من نمو الساق ولكن أدوارها الدفاعية تفعل بالتدريج فى اللحاء الثانوى حيث أنهــا تطور طبقات أكثر كثافة . قنوات الراتنج التكوينية فى اللحاء دائماً ما تكون قطرية وتقــع جنباً إلى جنب فى نطاق الشعاعات القطرية متعددة السلاسل المحاطة بواسطة شــعاعات الخلايا البرانشيمية . القطاع العرضى لهذه القنوات يزداد فى الحجم فى الأجزاء القديمــة من القلف وتكون كثيفة (الشكل ٥-٤ A) . قنوات الراتنج القطرية تحدث أولياً فى اللحاء ولكن البعض يتحرك سريعاً وباستمرار من اللحاء إلى الخشب الطرى حيث ترتبط بقنوات الراتنج المحورى (الشكل ٥-٦ E) .

جدول (٥-١) : الأنواع المختلفة من تراكيب الراتنج فى سوق الصنوبر تم عمل مجاميع للأجناس تبعاً للعائلات مع البدايــة مــع Pinaceae (١١ مجموعــة) واستمراراً مع Araucariaceae (٣٣ أجنــاس) و Podocarpaceae (١ من ١٨ – ١٩ جنس) و Cupressaceae ٧ (من ٣٣ جــنس) و Cpphalotoxaceae (١ فى ٣ أجناس) وكذلك Taxaceae (٢ فى ٣ أجناس)

Genus	Species	Cortical ducts	Phoem		Xylem		Reference
			constitutive	Inducible	Constitutive	Inducible	
Abies	>40	Yes	Cavities	No?	No	Cavities	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
Cedrus	2-4	Yes	Cavities	No?	No	Axial	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)

Pseudolaqrix	1	No	Cavities	No?	No	Cavities	Penhallow (1907), Bannan 1936 and Wu and Hu (1997)
Tsuga	9	Yes	Cavities	No?	No	Cavities	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
Nothotsuga	1	Yes	Radial	No?	No	Axial	Wu and Hu (1997)
Keteleeria	3	Yes	Radial	No?	Axial?	Axial?	Wu and Hu (1997)
Larix	14	No	Radial	No?	Network[1]	Axial	Hudgins et al. (2003a) and Wu and Hu (1997)
Pseudotsuga	5	Yes	Radial	No?	Network	Axial	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
Cathaya	1	Yes	Radial	No?	Network	Axial	Wu and Hu (1997)

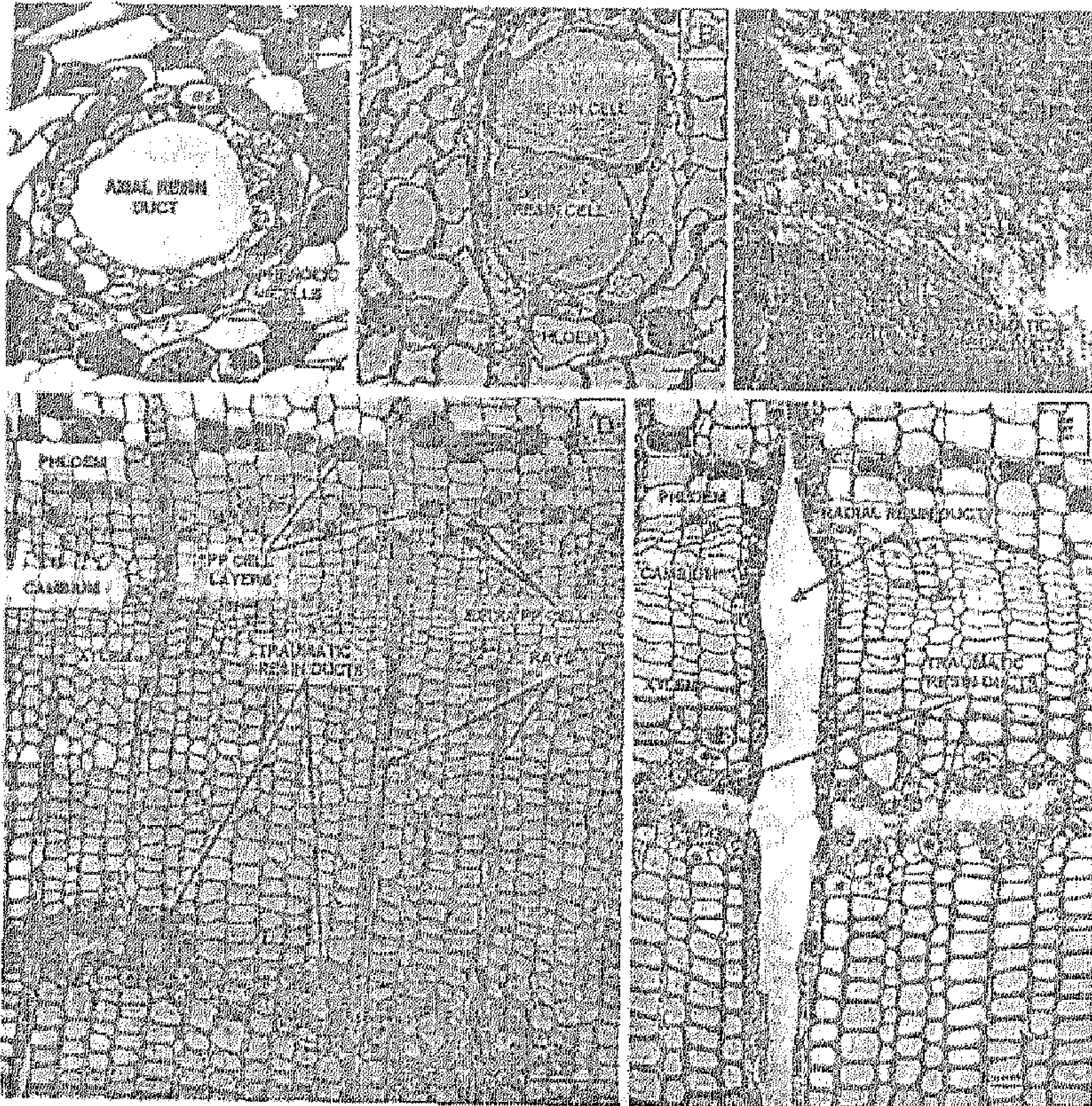
تابع جدول (٥-١) : الأنواع المختلفة من تراكيب الراتنج فى سوق الصنوبر تـم عمـل مجاميع للأجناس تبعا للعائلات مع البدايـة مـع Pinaceae (١١ مجموعة) واستمرارا مـع Araucariaceae (٣٣ أجنـاس) و Podocarpaceae (١ مـن ١٨ – ١٩ جـنس) و Cupressaceae ٧ (من ٣٣ جنس) و Cpphalotoxaceae (١ فى ٣ أجناس) وكذلك Taxaceae (٢ فى ٣ أجناس)

Genus	Species	Cortical ducts	Phoem		Xylem		Reference
			constitutive	Inducible	Constitutive	Inducible	
Picea	35	Yes	Radial	No?	Network	Axial	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
Pinus	115	Yes	Radial	No?	Network	(axial)[2]	Hudgins et al. (2004) and Wu and Hu (1997)
Araucaria	19		(no)[3]	Axial	No	No	Hudgins et al. (2004)
Agathis	21		No?	No?	No	No?	Penhallow (1907)
Wollemia	1		No?	No?	No	No?	Heady et al. (2002)
Keteleeria +17-18 genera	105 >65		No	No	No	No	Hudgins et al. (2004)
Thuja	5		Cells	No?	Cells?	No?	Hudgins et al. (2003b)
Chamaecyparis	6		No	Axial	No	No	Yamada et al. (2002)
Sequoia	1		Radial?	No	No	Axial	Hudgins et al. (2004)
Sequoiadendron			Radial?	No	No	Axial	Hudgins et al. (2004)

Metasequoia	1		Radial?	No	No	Axial	Hudgins et al. (2004)
Cryptomeria	1		No	Axial	No	No	Hudgins et al. (2004)
Cupressus +26 genera	>16 >117		(no)[3]	Axial	No	No	Hudgins et al. (2004)
Torreya +2 genera	5-6 16		No	No	No	No	Penhallow (1907)
Taxus +2 genera	9 2		No	No	No	No	Hudgins et al. (2003a)

قنوات الراتنج مبطن بخلايا طلائية غنية بالبلاستيد التى تنتج وتفـرز الـراتنج فـى التجويف الخلوى الفائق Lumen حيث يخزن تحت ضغط (الـشكل ٥-٧ A) . خلايـا الراتنج البسيطة تراكم الراتنج داخلياً تحت ضغط ويمكن أن تمتد فى تراكيب كبيرة نـسبياً (الشكل ٥-٦ B) .

شكل (٥-٦) : قطاعات عرضية فى التراكيب التى تحتوى الراتنج فى الصنوبريات . (A) قنـاة راتـنج موجهة محورياً فى منطقة القشرة الخارجية مـن لحـاء شـجرة بلـسم فيـر Abies)

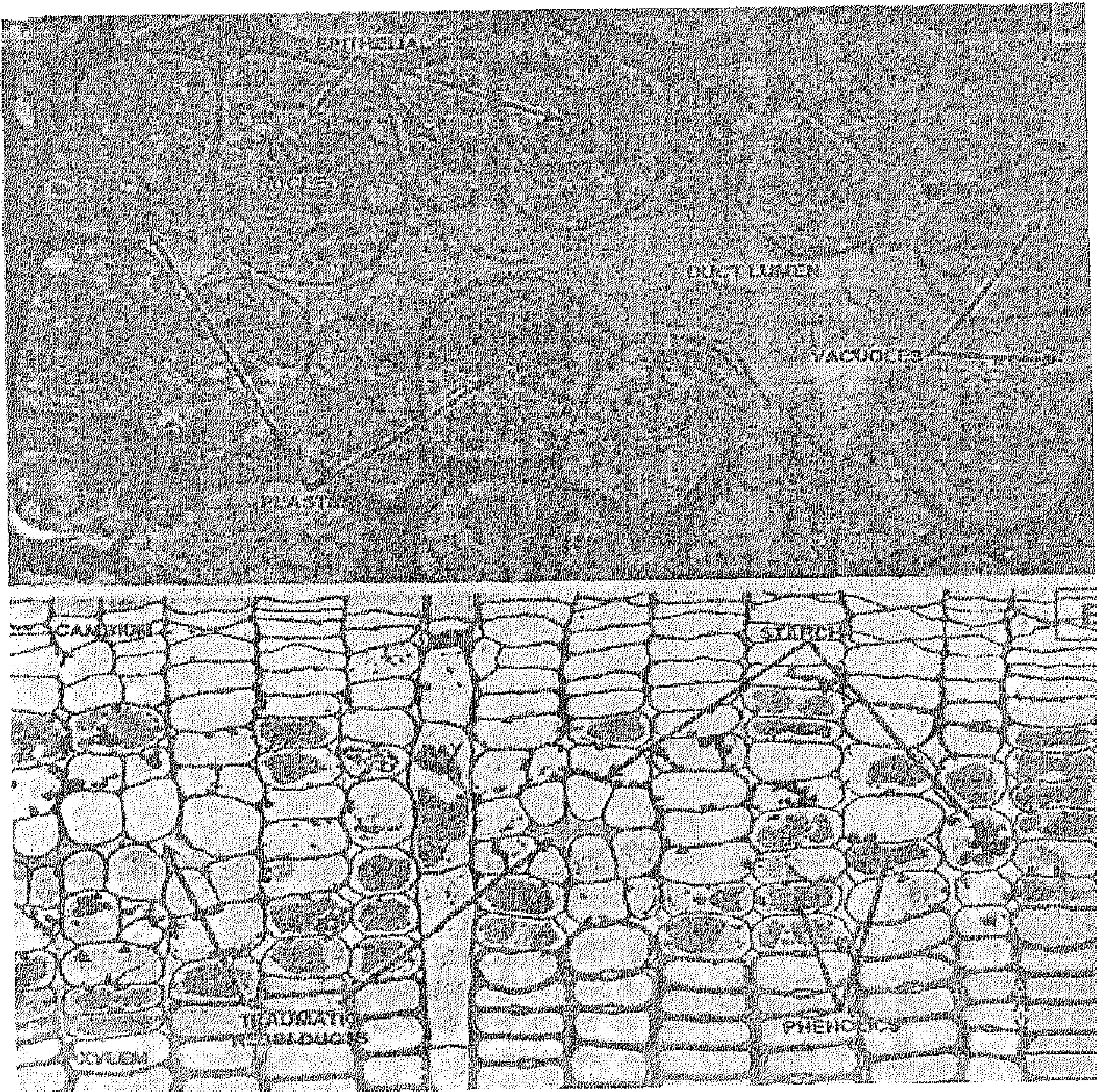


balsamea) . الحاجز ٥٠ ميكروميتر . قنوات الراتنج الدائرية فى القشرة تبطن بخلايا طلائية صغيرة المحاطة بشريط من الخلايا التى تحتوى على المادة الفينولية . (B) فـى Abies grandis حيث ينتج ويخزن الراتنج فى خلايا راتنج فردية فى اللحاء الثـانوى . الحاجز ٥٠ ميكروميتر . (C) تكبير قليل لقلف والخشب الطرى للـصنوبر النرويجـى

Picea abies يوضح قنوات الراتنج الجرحية داخل الخشب الطرى بعد ٣ أسـابيع مـن الحقن بفطر الصبغة الزرقاء C.polonica . قنوات الراتنج الجرحى ترى صغيرة وعلى شكل قنوات موجهة محورياً قريبة من الكامبيوم . (D) نظرة قريبة عند قنـوات الـراتنج الجرحى فى خشب الصنوبر النرويجى بعد حقن الفطر . قنوات الراتنج الجرحـى تتميـز بارتباطها بالشعاعات القطرية . (E) قطاع عرضى يوضح استمرار التجويف بين قنوات راتنج جرحى ملتحمة وقناة الراتنج القطريـة عبـر اللحـاء والخـشب . الحـواجز ٥٠ ميكروميتر .

قنوات الراتنج تكون انغلاق Schizogenouly حيث تسحب الخلايا الطلائية جزئياً خلال تكوين قناة الراتنج (Nagy et al ., 2000) . الخلايا الطلائية التى تبطن قنـوات الراتنج القطرية والمحورية ذات جدر رقيقة وتعيش طويلاً على عكس الخلايـا الطلائيـة لتجاويف الراتنج التى تعيش قصيراً وتصبح ملجننة بالتدريج خـلال التطـور (Bennan 1963 , Faha ,1974).

شكل (٥-٧) : قطاعات عرضية فى الخلايا الطلائية لقنوات الراتنج الجرحية الناميـة .



(A) فى الصنوبر النرويجى حيث الخلايا الطلائية تبطن قناة الراتنج وتتميز بسيتوبلازم كثيف مع العديد من البلاستيدات والفجوات ونـواة متـضخمة . البلاستيدات العديدة تمثل الموقع الأولـى لتخليـق الـراتنج . الحـاجز ١٠ ميكروميتر . (B) قنوات الراتنج الجرحية فى بداية تطورها تكون محاطـة بخلايا برانشيمية حية مملوءة بحبيبات النشا ومادة الفينول .

٣-٢- تشريحية وتطور قنوات الراتنج الجرحية

بالإضافة إلى تراكيب الراتنج التكوينى فإن العديد من الصنوبريات تطـور تراكيـب راتنج محفزة استجابة للتحديات الحيوية واللا حيوية مثـل هجـوم الحـشرات والعـدوى بمسببات الأمراض والتلف من الصقيع أو الجـروح الطبيعيـة (Kyto et al., 1996 , Alfaro , 1995) . فى عائلة Pinaceae فإن تراكيب الراتنج المحفزة تحدث عادة تحت ما يسمى بقنوات الراتنج المحورية الجرحية أو المرضية فى الخشب ولكن قنوات الـراتنج المحورية تحفز كذلك فى لحاء القليل من الصنوبريات غير عائلة Pinaceae (جدول ٥-١) . طبيعة الكامبيوم الوعائى تشير إلى أن قنوات الراتنج المحفـزة يجـب أن تكـون محورية وليست قطرية . الكامبيوم يستطيع إعادة البرمجة وبسرعة لإنتاج قنوات الـراتنج المحورية العاملة التى تكون بطول عدة أمتار بينما نحتاج لسنوات لإنتاج القنوات القطرية بأى درجة .

قنوات الراتنج الجرحية (TRD's) تتكون فى صورة حزم محيطية من خشب العديد من أنواع عائلة صنوبريات Pinaceae (أشكال ٥-٤ B و ٥-٥ D) . هذه الحزم تحاط فى الغالب بواسطة تراكيدات صغيرة ذات جدر خلوية سميكة وتكون مرئية للعين العاديـة كخط مشقوق داخل الحلقة السنوية (حلقات سنوية كاذبة – الـشكل ٥-٦ C) . تكـوين TRD's الفاعلة مع النشاط الإفرازى يحدث بسرعة ويتطلب مـن ٢ – ٤ أسـابيع فـى الصنوبر النرويجى TRD's تتكون بنفس الطرق كقنوات راتنج محورية عادية بواسـطة الانغلاق بين الخلايا الطلائية البادئة عندما تكون هذه الخلايا مازالت قريبة مـن منطقـة الكامبيوم (الشكل ٥-٧ B) . فى بعض الأحيان تنتج قنوات راتـنج كبيـرة عرضـية بواسطة الالتحام Anastomosis المحيطى للقنوات المجاورة (Gerry , 1942 – الشكل ٥-٦ E). إذا كان المنشط المحفز قوى تنتج TRD's محيطية كاملة ومع الوقت قد تمتـد هذه القنوات لعدة أمتار من نقطة التحفيز فى الصنوبر . فـى الأجنـاس الأخـرى مثـل Cedrus , Tsuga , Abies وكذلك Pseudolarix تتكون TRD's فى منطقة الجـروح . (Wu and Hu , 1997)

نظام قنوات الراتنج الجرحية TRD قد تمثل حجم ذو اعتبار وتساهم بدرجة معنوية فى الإنتاج الشامل لراتنج الشجرة . بعد التحفيز المكثف تكون TRD's أكثر وفرة عن قنوات الخشب العادية وقد تمتد حتى ٥٠ – ١٠٠% من محيط الخشب فى الصنوبر النرويجى . كذلك يكون TRD's أكثر فى الكبر عن قنوات الخشب التكوينية وكمثال فإنها فى الصنوبر النرويجى تكون أكثر عرضاً بمقدار مرتان وتمثل حجم أربعة أمثال أكبر لكل وحدة طول فى القناة . TRD's يكون شبكة مرتبطة داخلياً من الفجوات المملوءة بالراتنج محيطياً فى الخشب الطرى الجديد وكذلك قطرياً مع تجاويف مستمرة بين قنوات TRD's المجاورة وقنوات الراتنج التكوينية القطرية (الشكل ٥–٦ E) . هذا التنظيم يسهل انسياب الراتنج محورياً على امتداد الجزع وقطرياً فى اتجاه سطح القلف .

يبدو أن قنوات TRD's تنشأ من الخلايا الأم للخشب . نظام التوزيع الصارم لقنوات TRD's فى الحزم المحيطية تحقق خليط من الترسيب المسبق والنشر المحيطى للمنشط مما يؤدى إلى حدوث تحفيز منسق وتشكيل خلايا الخشب الأم . مع زيادة المسافة من نقطة التحفيز فإن قنوات TRD's تقل فى الحجم والعدد بالتدريج وتوجد بالقرب والقرب من الكامبيوم . لذلك فإنها تبدو فى فترة راحة Lag period فى إنتاج وتشكل TRD's بعيداً عن المنشط الذى يكون متوافقاً مع التأشير التى تحفز موجة التطور المسافرة فى اتجاه المحور عند حوالى ٢,٥ سم لكل يوم . يبدو أن تكوين قناة TRD ينشط خلال مسار الأوكتاديكانويد الذى يتضمن التأشير بالجسمونات والاثيلين .

٣–٣– الأدوار الدفاعية لقنوات TRD's

تكوين TRD فى الصنوبر النرويجى عبارة عن جزء من استجابة الدفاع المعقد الذى يحدث بسرعة وفى تنسيق مما يؤدى إلى تكوين شبكة مفرزة للراتنج بكثافة . النتيجة حدوث تراكم كثيف للراتنج وتحفيز انسياب الراتنج عند موقع الهجوم . الحقن الصناعى أو الجرح يؤدى إلى تكوين TRD وزيادة تخليق الراتنج ومن ثم يمكن أن يستخدم لتحسين وإبداء مقاومة الشجرة ضد الحشرات ومسببات الأمراض . كمثال فإن أشجار الصنوبر النرويجية التى عوملت مسبقاً بعدوى فطرية غير قاتلة طورت قنوات TRD's بوفرة والتى حافظت على الأشجار أكثر مقاومة للعدوى الكثيفة اللاحقة بعد ٣ – ٩ أسابيع . قابلية الشجرة على عملية تكوين الراتنجات الجرحية Resinosis يمكن أن تستخدم للكشف عن المقاومة . كمثال فإن الكلونات المقاومة للصنوبر النرويجى والصنوبر الأبيض تنتج قنوات TRD's أكثر وبسرعة أكثر بالمقارنة بالكلونات الحساسة (Tomlin et al., 1998) . فى الصنوبر الأبيض وجد أن قنوات الراتنج الأكبر فى الداخل والسميكة فى

الخارج ترتبط بالمقارنة ضد خنفساء الصنوبر الأبيض Pissodes strobe (A lfaro et . al., 2004)

يوجد أدلة وفيرة بأن راتنج أشجار الصنوبر فعال فى الدفاع ضد الحشرات . فى العديد من الصنوبريات يتم تحفيز التربينات الأحادية فى الأنسجة التى تهاجم بواسطة خنافس القلف والفطر ذات الصبغة الزرقاء المرتبط بها . لقد وجد الباحث Tomlin et al., (2000) أن محاكاة الضرر الذى تحدثه سوسة الصنوبر الأبيض حفز النسبة بين المونوتربينات وحمض الراتنج في مناطق الساق بعيداً من موقع الجرح فى الأشجار المقاومة ولكنها كانت قليلة فى الأشجار الحساسة . الراتنج الغنى بالمونوتربينات الأقل لزوجة عن الراتنج التكوينى ويحتمل أن تنساب بشكل أكثر سهولة فى تجاويف وضع البيض وفى أنفاق اليرقات ولذلك يكون أكثر فاعلية فى تثبيط / قتل السوس غير الناضج . الراتنج قد يثبط كذلك غزو الحشرات ونمو الميسيليوم فى الممرضات الفطرية بسبب صفاتها السامة . كمثال وجد Klegzig et al., (1915) أن التربينات الأحادية فى راتنج الصنوبر الأحمر يثبط إنبات الفطر ونمو الميسيليوم وكذلك أنفاق الخنافس . الألفا – بينين على وجه الخصوص هو المونوتربينات الأكثر وفرة فى لحاء الصنوبر الأحمر مما يحقق نشاط حيوى قوى تجاه الحشرات والفطريات .

داى تربينات الراتنج تعتبر ذات تأثيرات أبادية على الحشرات والفطريات وهى مهمة فى إغلاق الجروح . الجرح المفتوح من المسارات المؤثرة فى العدوى لهجوم الحشرات والفطريات الممرضة وأن القفل الفعال للجرح حاسم فى منع الغزوات . حامض أبيتيك دايتربين هام فى البلمرة التأكسدية للراتنج وحامض ديهيدروابيتيك للزوجة الراتنج والبلورة. أشجار الصنوبر الأبيض المقاومة يبدو أنها تنتج تربينات متطايرة أكثر وأحماض راتنيجية دايتربينات فى منطقة الجروح عما هو الحال مع الأشجار الحساسة .

تحفيز قنوات TRD's الفعال فى العادة يكون بطيء جداً لتحقيق الفاعلية ضد الهجوم المكثف السريع بواسطة خنافس القلف والتى قد تكتمل خلال أيام قليلة (Paine et al., 1997) . هذا ولو أن تكوين TRD قد تساهم فى تحقيق الدفاع عندما تكون مهاجمة خنفساء القلف تبطيء بواسطة الظروف المناخية غير الملائمة وقد تكون هامة كذلك فى حماية الأشجار ضد مسببى الجروح بعد التلف الميكانيكيى للقلف كمثال .

References

Alfaro RJ (1995) An induced defense reaction in white spruce to attack by the white-pine weevil, *Pissodes strobe.* Can J For Res 25:1725-1730

Bannan MW (1936) Vertical resin ducts in the secondary wood of the abietineae. New Phytol 35:11-46

Brignolas F, Lieutier F, Sauvard D, Christiansen E, Berryman AA (1998) Phenolic predictors for Norway spruce resistance to the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) and an associated fungus, *Ceratocystis polonica*. Can J For Res 28:720-728

Charon J, Launay J, Carde J-P (1987) Spatial organization and vol̂ume density of leucoplasts in pine secretory cells. Protoplasma 138:45-53

Cook SP, Hain FP (1988) Toxicity of host monoterpenes to *Dendroctonus frontalis* and *Ips calligraphus* (Coleoptera: Scolytidae). J Entomol Sci 23:287-292

Dixon RA, Paiva NL (1995) Stress-induced phenylpropanoid meatabolism. Plant Cell 7:1085-1097

Erbilgin N, Kroken P, Christiansen E, Zeneli G, Gershenzon J (2006) Exogenous application of methyl jasmonate elicits defenses in Norway spruce (*Picea abies*) and reduces host colonization by the bark beetle *Ips typographus*. Oecologia 148:426-436

Fahn A (1990) Plant anatomy. Pergamon Press, Oxford

Franceschi VR, Krokene P, Krekling T, Christiansen E (2000) Phloem parenchyma cells are involved in local and distant defense responses to fungal inoculation or bark beetle attack in Norway spruce (Pinaceae). Am J Bot 87:314-326

Gijzen M, Lewinsohn E, Savage TJ, Croteau RB (1993) Conifer monoterpenes – biochemistry and bark beetle chemical ecology. ACS Symp. Ser. 525:8-22

Heady RD, Banks JG, Evans PD (2002) Wood anatomy of wollemi pine (*Wollemia nobilis*, Araucariaceae). IAWA Journal 23:339-357

Hudgins JW, Franceschi VR (2004) Methyl jasmonate-induced ethylene production is responsible for conifer phloem defense responses and reprogramming of stem cambial zone for traumatic resin duct formation. Plant Physiol 13:2134-2149

Johnson MA, Croteau R (1987) Biochemistry of conifer resistance to bark beetles and their fungal symbionts. In: Fuller G, Nes WD (eds) Ecology and metabolism of plant lipids. American Chemical Society, Washington DC, pp 76-92

Kartuch B, Karuch R, Weilgong P (1991) Site-specific differences in calcium oxalate content of the secondary phloem of spurce (*Picea abies* Karst). Flora 185:377-384

Kyto M, Niemela P, Annila E (1996) Vitality and bark beetle resistance of fertilized Norway spruce . for Ecol Manag 84 : 149 – 157

Li SH , Schneider B , Gershenzon J (2007) . Microchhemical analysis of saaser – microdissected stone cells of Norway spruce by cryogenic nuclear magnetic resonance spectroscopy . Planta 225 : 771 – 779

Martin D , Tholl D , Gershenzon J , Bohlmann J (2002) Methyl jasmonate induces traumatic resh ducts , terpenoid resin biosynthesis , and terpenoid accumulation in developingxylem of Norway spruce stems . Plant physiol 129 : 1003 – 1018

Nagy NE , Krokene P, Solheim H (2006) Anatomical – based defense responses of Scots pine (pinus sylvestris) stems to tow fungal pathogens . Tree physiol 26 : 159 – 167

Ohtsu K, Takahashi H, Schnable PS , Nakazono M (2007) Cell type – specific gene expression profiling in plants by uding a combination of laser microdissection and high – throughput technologies . plant cell physiol 48 : 3 – 7

Paine TD , Raffa KF , Harrington TC (1997) Interactions among scolytid bark beetles , their associated fungi , and live host conifers . Ann Rev Entomol 42 : 179 – 206

Philips MA , Croteau RB (1999) Resin – based defense in conifers . Trends plant Sci 4 : 184 – 190

Raffa KF , Berryman AA (1983) , Physiological aspects of lodgepole pine wound responses to a fungal symbiont of the mountain pine beetle , Dendroctonus ponderosae (Coleoptera ; Scolytidae) . Can Entomol 115 : 723 – 734

Ruel JJ , Ayres MP , Lorio PL (1998) Loblolly pine responds to mechanical wounding with increased resin flow . Can J for Res 28 : 596 – 602

Shain L (1967) Resistance of sapwood in stems of loblolly pine to infection by fomes aunosus . phytopathology 57 : 1034 – 1045

Shrimpton DM , Whitney HS (1968) Inhibition of growth of blue stain fungi by wood extractives . Can J Bot 46 : 757 – 761

Tomlin ES , Alfaro RI , Borden JH , He FL (1998) Histological response of resistant and susceptible white spruce to simulated white pine weevil damage . Tree physiol 18 : 21 – 28

Virri H , Annila E , Kitunen V , Niemela P (2001) Induced responses in stilbenes and terpenes in fertilized Norway spruce after inoculation with blue – stain fungus , Ceratocystis polonica . Trees 15 : 112 – 122

Werker E , Fahn A (1969) Resin ducts of pinus halepensis Mill . – their structure , development and pattern of arrangement . Bot J Linn Soc 62 : 379 – 411

Zeneli G , Krokene P , Christiansen E , Krekling T , Gershenzon J (2006) Methyl jasmonate treatment of large Norway spruce (Picea abies) trees increases the accumulation of terpenoid resin components and protects against infection by Ceraocystis polonica , a bark beetle – associated fungus / Tree physiol 26 : 977 - 988

الباب السادس

إنتاج نواتج التمثيل الثانوية " التربينويدز والفينيل بروبانويد " للدفاع ضد الحشرات والجروح فى أشجار الصنوبر

أولاً : دفاعات التربينويدز المحفزة في أشجار الصنوبر

الصنوبريات تنتج سلسلة من التربينويدز المختلفة تصل عددها بالمئات كجزء من الوسائل الدفاعية المعقدة من الصفات الكيميائية والطبيعية والايكولوجية ضد الآفات الحشرية والممرضات النباتية فى الصنوبريات . كان يظن أن تنوع كيميائيات التربينويدز تعمل كغطاء كيميائى فى طبقات متعددة فى أشجار الصنوبريات التى تعيش طويلاً والتى تحقق حماية طويلة المدى ضد الآفات الحشرية الأكثر سرعة والممرضات النباتية . تكوين دفاعات التربينويدز فى الصنوبريات تتضمن نشاط مسارين الأول هو مسار الميثيل ارثيريتول فوسفات ومسار الميكالونات التى تقود إلى التخليق الحيوى لبادئات التربينودز ذات الخمسة ذرات كربون . العديد من المونوتربينويدز ، سيسكويتربينويدز ، أحماض الراتنج ثنائية التربينات والتى توجد فى مخاليط الأوليو راتنجات وهى تتكون حينئذ من عائلات الإنزيمات التى تنتمى لأقسام برينيل ترانسفيريس ، تربينويدسينسيزيس والمونواكسجينزيس المعتمدة على السيتوكروم بى – ٤٥٠ . الجينات اللازمة لجميع الخطوات الإنزيمية فى التخليق الحيوى لأوليوراتنج التربينويدز تم تعريفه فى أنواع الصنوبريات والتى اتفق على اعتبارها نظام صنوبرى مرجعى لدراسات الدفاعات التكوينية والمحفزة بالتربينويدز باستخدام الاقترابات البيوكيميائية والوراثة الجزيئة والجينومين والبروتيوميك . عند المستويات النسيجية والخلوية فإن تربينويدز الاوليوراتنج ينتج ويتراكم تركيبياً فى كميات كبيرة فى التراكيب التشريحية الخاصة التى توجد فى معظم الأعضاء والأنسجة . فى العديد من أنواع الصنوبر فإن التخليق الحيوى وتراكم التربينويدز تحفز بعد ذلك كجزء من الدفاع المحفز استجابة لهجوم الحشرات والفطريات .

J. Bohlmann

Michael Smith Laboratories , University of British Columbia , Vancouver , B.C., Canada .

e-mail : bohlmann@msl.ubc.ca

١ - مقدمة

الصنوبريات (مثل أفراد العائلة Pinaceae) تتضمن بعض الكائنات التي تعمر طويلاً والأطول على سطح الأرض . التركيب الطبيعي في الطول وامتداد فترة الحياة لهذه الأحياء جعلتها من الأهداف الدائمة مكانياً وزمانياً للعديد من آكلات النباتات المؤثرة والممرضات النباتية . الدفاع والمقاومة الناجحة للصنوبريات ضد معظم آكلات النباتات والممرضات يمكن تفسيرها ولو جزئياً بواسطة تكوين سلاسل متنوعة من المونوتربينويدز، سيسكويتربينويدز وحمض الراتنج ثنائي التربين وجميعها كيميائيات دفاعية . هذه الكيميائيات تتراكم بكميات كبيرة في صورة مخاليط سابقة التكوين أو محفزة من الأوليوراتنج . بعض التربينويدز خاصة المونوتربينات والسيسكوتربينات يمكن أن تنبعث بنشاط كمركبات عضوية متطايرة وتعمل وظيفياً ككيميائيات للإشارة Semiochemicals من أشواك الصنوبريات . الراتنج الزيتي للصنوبر يخزن في تراكيب تشريحية خاصة مثل قنوات الراتنج وثبرات الراتنج أو خلايا الراتنج في السوق والجذور والأشواك . برامج تطور التكوين التركيبي لهذه التراكيب الخاصة التي تراكم الراتنج غير مفهومة فيما عدا أنه في الوقت الراهن من أن تكوين ما يطلق عليه قنوات الراتنج الجرحية تحفز في منطقة الكامبيوم لسوق الصنوبريات استجابة لهجوم الحشرات أو الفطريات أو بواسطة الجروح الميكانيكية أو بواسطة التحفيز الكيميائي بالمثيل جسمونات (Me JA) أو المعاملة بالاثيلين . في السنوات الحديثة تم نشر العديد من الدراسات المرجعية تحت عنوان دفاعات الراتنج الزيتي التربينويدي في الصنوبريات .

(e.g. Bohlmann and Croteau 1999 ; Phillips and roteau 1999 ; Trapp and Croteau 2001 a ; Keeling and Bohlmann 2006 a , b) .

عائلات إنزيمات تربينويد سينسيزيس (TPS) والمونواكسيجينيزيس المعتمدة على سيتوكروم بي ٤٥٠ تلعب دوراً محورياً في تكوين تنوع كيمياء التربينويد ولمرونة الطرز الفينولوجية في دفاعات الصنوبر . كلا TPS , P 450 تشفر في العائلات متعددة الجينات في الصنوبريات . عائلات الجينات هذه يعتقد أنها تساهم في المستويات الجينومية والجزيئية والبيوكيميائية وتساهم أكثر في تنوع ومرونة دفاعات التربينويدز التكوينية والمحفزة في الصنوبريات التي تعيش طويلاً . على عكس TPS و P 450 لا يعرف إلا القليل حول الخطوات المبكرة للتخليق الحيوي للتربينويدز في الصليبيات مع قليل من الدراسات المنشورة عن البرينيل ترانسفيريزيس (PT في Tholl et al. 2001) أو الخطوات المبكرة في التخليق الحيوي لايزوبرينويد الصنوبر (Phillips et al., 2007) . هذا ولو أن مشروع جينوم الصنوبر عرف الجينات (مثل EST's , DNA's ...) لكل خطوة منفردة في مونوتربينويدز الصنوبر ، سيسكيوتربينويدز والدايتبرنيويدز في منظومة التخليق الحيوى لها (Ralph et al., 2006) .

استمرارا وتعظيما للعمل الرائد الذى أجرى بواسطة Ryan Clearanee (Bud) ومعاونوه فإن استخدام المثيل جسمونات Me JA كمادة محفزة للدفاعات النباتية مكنت العلماء والباحثين من تطور توصيف تفصيلى لدفاعات التربنيودز المحفزة فى العديد من أنواع الصنوبريات مثل الصنوبر النرويجى Picea abiec وصنوبر سيتيكا (.P sitehensis) والصنوبر الأبيض (P. glauca) ... وغيرها . مع معاملة بادرات الصنوبر والأشجار الناضجة أو حتى المزارع الخلوية بالمثيل جسمونات أصبح فى الإمكان القياس الدقيق للتغيرات الكمية والوصفية للتربينويدز الراتنج الجرحى والكشف عن ديناميكيات الأنشطة الإنزيمية ومستويات النسخ المحفزة فى الاستجابة الدفاعية للتربينويد الجرحى وتحليل الانبعاث المحفز والنشط للمواد المتطايرة للتربينويدز . بالإضافة إلى ذلك فإن المعاملة غير الغزوية بالمثيل جسمونات على عكس الجروح الميكانيكية أو الهجوم بالحشرات تسمح بالتحليل المكانى والزمانى لتشكل الخلية خلال تكوين الراتنج الجرحى فى منطقة الكامبيوم لسيقان شجرة الصنوبر . استخدام المثيل جسمونات تقدم وسيلة قوية لمحاكاة بعض تأثيرات تغذية الحشرة فى الصنوبر على الأقل كما ظهر فى استجابة صنوبر ستيكا لسوسة الصنوبر الأبيض . فيما وراء استخدام المثيل جسمونات كمحفز خارجى فإن كلا تأشير الاثيلن والأوكتاديكانويد يبدو أنها تشترك فى التأشير الداخلى لاستجابة الراتنج الجرحى المحفز فى الصنوبر .

المثيل جسمونات أو تراكم التربينويدز المحفز بهجوم الحشرة فى قنوات الراتنج الجرحى فى السيقان والجذور وكذلك فى الانبعاثات المحفزة للتربينويدز المتطايرة من الأشواك يتحكم فيها على الأقل فى جزء منها بواسطة تنظيم التخليق الحيوى للتربينويدز (Martin et al., 2002) . فى هذه العملية فإن مستويات النسخ و / أو الأنشطة الإنزيمية لخطوات عديدة فى تكوين التربينويدز وهى تنظم فى مسارات المثيل ارثيريتول فوسفات (MEP) وفى الخطوات المتتابعة برينيل ترانسفيريز وفى الخطوات الأخيرة التى تحفز بواسطة TPS , P450 . تحليل أكثر من ٢٠٠ ألف EST's الصنوبر و ٦٤٦٤ FLc DNAs نهائى عالى الجودة على امتداد النسخ ترانس كريتوم وتحليل البروتيوم أمكن تعريف العديد من العمليات التى تحدث فى الحشرات الأخرى وتنظم بواسطة Me JA فى الدفاع الكيميائى المحفز والمقاومة فى صنوبر سيتيكا ضد سوسة الصنوبر الأبيض وديدان براعم الصنوبر (Ralph et al., 2006) .

٢ – كيمياء التخليق الحيوى للتربينويدز فى دفاعات الصنوبريات

التقدم فى بحوث الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الجزيئية للتربينويدز فى دفاعات الصنوبريات تم نشره مرجعياً فى السنوات الحديثة والعديد من الدراسات المرجعية عن هذا الموضوع متاحة (Bohlmann and Croteau , 1999) . التربينويدز يمثل المجموعة الأكبر لنواتج التمثيل الثانوية المعروفة . الأقسام الثلاثة الكبيرة للمونوتربينويدز والسيسكوتربينويدز والداى تربين لأحماض الراتنج من أكثر كيميائات دفاع المتوفرة من التربينويدز فى الصنوبريات . بوجه خاص فإن أحماض الراتنج المونوتربينودية ومن الداى تربينات تكون معظم حجم الراتنج الزيتى فى الصنوبر . بالإضافة إلى ذلك فإن السيسكوتيربينودز تساهم لحد كبير فى التنوع فى تركيب الكيميائيات فى مخلوط الراتنج الزيتى . التخليق الحيوى للمونوتربينويدز والسيسكوثيرينودز والداى تربينات لأحماض الراتنج تبدأ مع وحدات البناء ذات الخمسة ذرات الكربون وهى أيزوبنتيل داى فوسفات (IDP) ومشابهة دايمثيل الليل داى فوسفات (DMAPP) فى النباتات يوجد مساران لتكوين هذه البادئات وهما مسار حامض ميكالونيك (MEV) ومسار (MEP) . بناء على تتابع التوسع الكبير EST , FL , DNA الجميع ولكن جين واحد لمسارات MEV and MEP يتم كلونتهم من الصنوبر ستيكا و / أو الصنوبر الأبيض (Relph et al., 2006) . المجهودات الجينومية هذه فى صنوبر سيتكا والصنوبر الأبيض بواسطة امتداد أو توسع اكتشاف الجين لأنواع الصنوبر الأخرى أدت إلى تعريف والتوصيف الوظيفى لعائلة صغيرة من الجينات المتباينة المحفزة بالمثيل جسمونات والإصابة الفطرية للخطوة الأولى فى مسار MEP وإنزيم ديوكسى زيليلوز فوسفات سينسيز أو (DXPS) فى الصنوبر النرويجى (Phillips et al., 2007) . بناء على الدراسات التى أجريت على الصنوبر النرويجى DXPS فى مزارع معلقات الخلايا أتضح أن الصور المشابهة المختلفة Soforms قد يكون لها وظائف خاصة فى تنظيم تدفق الوسيط فى تمثيل الايزوبرينويد الأولى وتمثيل دفاع التربينويد الثانوى . يستتبع تكوين DMAPP , IDP تفاعلات تكثيف ١ – ٤ للمحفز PTS مندمجاً مع البرينيل داى فوسفات الألليلى . بوجه خاص فإن إنزيم جيرانيل داى فوسفات (GDP) سينسيز يكون بادىء المونوتربينويدز ذات العشرة ذرات الكربون ، وإنزيم فارنيسيل داى فوسفات (FDP) سينسيز يكون بادىء مجموعة السيكيوتيربينويدز ذات الخمسة عشرة ذرة كربون بينما إنزيم جيرانيل داى فوسفات (GGDP) سينسيز ينتج البادىء ذات العشرين ذرة الكربون للداى تربينويدز . لقد تم توصيف قليل من PT's الصنوبر فى الصنوبر grand (Tholl et al., 2009) fir وحديثاً فى الصنوبر النرويجى وعدد كبير من PT's مع Fl , DNA's EST فى صنوبر ستيكا والصنوبر الأبيض . هذا ولو أنه يعتقد أن التخليق الحيوى للسيسكوتربينويدز والداتيربيونيدز قد يتحكم فى تدفق مسار المواد الوسيطة عند نقط تفرع

التخليق الحيوى للمونوتربينويدز والسيسكوتربينويدز والداى تربينويدز فى الدفاع المحفز فى الصليبيات فيما عدا قليل من الدراسات التى تحدد تنظيم بعض الأنشطة ومستويات النسخ . تنظيم التخليق الحيوى للتربينويدز مازال غير مفهوم وفى حاجة لمزيد من الدراسات والتوصيف .

إنزيمات تربيدنويد سينسيزيس (TPS) تستخدم الثلاثة برينيل داى فوسفات GGDP , FDP , GDP كمواد وسيطة Substrates فى تكوين مئات من التراكيب المتنوعة للمونوتربينويدز والسيسكيوتربينويدز والداى تربينويدز . إنزيمات TPS توجد في عائلات الجينات الكبيرة والتى تثير الجدل حول أفضل الجينات الموصفة وإنزيمات الدفاعات الكيميائية فى الصنوبريات (Martin et al., 2004) . الكثير من العمل على إنزيمات TPS فى دفاع الصنوبر المحفز يبنى على الدراسات المبكرة والرائدة بواسطة Rodney Crotean ومعانوه فى جامعة ولاية واشنطن . إنزيمات TPS تستخدم ميكانيكية تفاعل محب للالكترونات يساعد بواسطة العوامل المساعدة من أيونات المعدن ثنائى التكافؤ (Davis and Crotean , 2000) . المواد الوسيطة برينيل داى فوسفات تتأين أو تكتسب بروتونات بواسطة TPS لإنتاج مواد وسيطة من الكربونية النشيطة Carbocation . وسائط الكربونية يعاد ترتيبها فى نطاق التحديات المكانية لموقع إنزيم TPS النشط وتخمد بقوة لإنتاج العديد من منتجات التربينويدز الحلقية واللا حلقية (Sterks et al., 1997) . بينما بعض إنزيمات TPS تكون منتج منفرد واحد فقط فإن غالبية إنزيمات TDS الموصفة حتى الآن تتضمن العديد من TPS التى عرفت فى الصنوبريات وتنتج سلاسل من المنتجات المتعددة من وسيط منفرد (Stelle et al., 1998) . بناء على مواصفات الوسائط الخاصة بها فإن TPS للمنتج المنفرد والعديد تقسم فى مجاميع وفى أقسام مونو – TPS ، سيسكيو TPS ، والداى – TPS وهى مسئولة عن تكوين هياكل التربين البسيطة (لا حلقية أو تركيب حلقى منفرد) وهياكل تربينية أكثر تعقيداً (تراكيب من حلقتين أو أكثر) للمونو ، السيسكيو ، الداى تربينويدز فى الصنوبريات . العديد من إنزيمات TPS فى الصنوبر المعروفة يبدو أنها تحقق مكافحة تفوق ما تحقق منتجات الكيمياء الفراغية وفى العادة يسود مشابه Enantiomer أى بروفيل لمنتج الإنزيم TPS . فى الوقت الراهن تم كلونة ما يقارب ٥٠ من الصنوبريات المختلفة فى الصنوبر النرويجى وتم تعريفها وظيفياً ونفس الشىء فى صنوبر سيتكا والصنوبر الأبيض (Faldt et al. 2003 , Keeling et al., 2006 a) . بالإضافة إلى ذلك فإنه تم كلونة إنزيم TPS وتم توصيفه من الصنوبر الكبير (Stofer vogel et al., 1996) .

بينما غالبية منتجات التربينويدز التى تتكون بواسطة مونــو – TPS وسيــسكيو – TPS تتراكم فى الراتنج الزيتى Oleoresin بدون أية تحــويرات بيوكيميائيـــة ظـــاهرة ولاحقة فإن أوليفينات الداى تربين التى تنتج بواسطة TPS – di قد تتعرض للأكسدة التى تساعد وتحفز بواسطة P450's . الآن عرف أن واحد فقط من إنزيم P450 المشترك فى تكوين أحماض الراتنج ثنائية التربين تكلون وتوصف وظيفياً (Ro et al.2005) إنزم Pt 450 AOP فى الصنوبر الكثيف وايتادينول / أبيتا دينال أوكسيديز ما هى إلا داى تربين اكسيديز متعدد الوسائط ومتعدد الوظائف فى عائلة Cyp 720 لإنزيمات P450 النباتية . pt AO يحفز ويساعد خطوتان أو ثلاثة على الأقل من الأكسدة المتتابعـــة فـــى تكـــوين أحماض الراتنج ثنائية التربينات فى الصنوبر والإنزيم يستخدم بكفاءة العديد من كحـــولات الداى تربين والدهيدات الداى تربينات المختلفة كمواد وسيطة . من خلال دمـــج وســـائط الداى تربينات المتعددة المقبولة وبواسطة تحفيز اثنين على الأقل من خطـــوات الأكـــسدة المتتابعة فإن إنزيم P450 هذا يؤدى إلى تكوين العديد من أحماض راتنج الداى تربينـــات المختلفة التى توجد فى الراتنج الزيتى لأشجار الصنوبر .

اعتماداً على المعلومات المتاحة فى الوقت الراهن فإن التخليق الحيوى للتربينويـــدز فى الصنوبريات يتضمن العديد من المكونات تحت الخلوية . إنزيمات مسار MEV يعتقد أنها تقع فى السيتوسول والشبكة الاندوبلازمية بينما مسار MEP يقع فى البلاســـتيدات . بينما GGDP , GDP سينسيزيس يعتقد أنها تقع فى البلاستيدات فإن FDP سينسيز تقـــع فى السيتوسول ومن الممكن أن يقع فى الميتوكوندريا . بناء على وجود أو غياب الببتيدات العبورية فإن المونو – Tps والداى – Tps توجد كذلك فى البلاستيدات بينما السيـــسكوى -Tps يبدو أنه سيتوسولى . فى النهايـــة فـــإن إنـــزيم Pt AOP450 يـــرتبط بالـــشبكة الاندوبلازمية (Ro et al. 2005) . لقد تم استنتاج أن إنزيمات تكوين الـــراتنج الزيتـــى التربينويدى توجد سائدة فى الخلايا الطلائية الخاصة التى تبطن سطح قنوات الـــراتنج أو بثرات الراتنج . لذلك فإن تضمين العديد من المكونات الخلويـــة فـــى التخليـــق الحيـــوى لتربينويدز الراتنج الزيتى وإمكانية ارتباط التخليق الحيوى للتربينويدز فى خلايا خاصـــة وكذلك السيسكوسترية الكثيفة وتراكم تربينويدز الراتنج الزيتى فى فراغ الخلايا الخارجيـــة لقنوات الراتنج أو ثبرات الراتنج أكدت على وجود نظم نقـــل فعالـــة خاصـــة للوســـائط والمنتجات النهائية للتخليق الحيوى للتربينويدز . نظم النقل هذه يبدو أنها ضرورية لنقـــل كميات كبيرة من التربينويدز المحبة للدهون ضد تدريجات فى التركيز وعبـــر الأغـــشية الخلوية وجدار الخلية فى مواقع التخزين خارج الخلايا ذات التراكيب التشريحية الخاصة .

٣- نشوء عائلات جين إنزيمات TPS , P450 لدفاع التربينويدز

كلونة وتوصيف دستات عديدة من إنزيمات تربينويدز سينسيزيس TPS من العديد من أنواع الصنوبر بما فيها الصنوبر النرويجي وصنوبر سيتكا والصنوبر الكثيف والكبير وصنوبر دوجلاس تمكن من إعادة تكوين أو بناء النشوء الوراثي Phylogenetic لعائلة إنزيمات TPS عاريات البذور ومن ثم تحجب بعض الضوء عن نشوء عائلة TPS الأكبر فى النباتات بوجه عام . بناء على علاقات التتابع الشامل للبروتين والتشابه فى التركيب الجينى وميكانيكيات التحفيز فإنه يعتقد أن جميع إنزيمات TPS النباتية نشأت من سلف شائع Ancetor الذى ترتبط عن قرب بإنزيمات TPS ثنائية التربين المعروفة وحديثاً تم توصيف الإنزيم مزدوج الوظيفة Ent – كوارين سينسيز من الطحالب أو الأشعة Physcamitrella patans (Martin et al. 2004) . من الممكن أن إنزيم TPS السلفى كان مشتركاً فى التخليق الحيوى لبادىء حمض الجبريلليك والكوباليل داى فوسفات و ent – كوارين . نشوء عائلة كبرى من إنزيمات Tps النباتية كما نعرفها الآن قد حدثت بوضوح ولحد كبير بشكل مستقل فى خطوط كاسيات وعاريات البذور متضمنة حوادث عديدة من تضاعف الجين والتخصص الوظيفى المتتابع كما هو الحال فى حدوث وظيفى جديد وأدنى وظيفياً .

بناء على التشابه فى تتابع الحمض الأمينى فإن عائلة إنزيم TPS يمكن تقسيمها فى سبع تحت عائلات توصف من TPS-a وحتى – TPS (Bohlmann et al., 1998a) 9 . إنزيمات المونو -TPS والسيسكيو – TPS والداى TPS تتعنقد بشكل منفصل من إنزيم TPS لكاسيات البذور إلى تحت عائلة TPS – d والتى تقسم لاحقاً فى المجاميع TPS – de (فى الغالب مونو – TPS) ، TPS – d2 (فى الغالب سيسكيو – TPS) ، TPS – d3 (فى الغالب di – Tps ... والجميع تحتوى على ٢٠ حمض أمينى سلفى). تحليل النشوء الوراثى وتركيب الجين يضع di – TPS للصنوبر أقرب لإنزيم TPS النباتى السلفى .

إنزيم TPS للتمثيل الثانوى للصنوبر يعتقد أنها تنشأ من TPS المشترك فى التمثيل الأولى . فى نشوء TPS فى الصنوبر فى التمثيل الثانوى للتربينويدز تحدث امتداد واسع لعائلات الجين وتنوع الوظائف البيوكيميائية (Martin et al., 2004) . نفس الوضع يحدث له فى حالة P450 . على العكس التمثيل الثانوى لإنزيمات TPS , P450 للتربينويدز مع وظائفها المتحورة فى مقاومة ودفاعات الصنوبر ضد الحشرات ومسببات الأمراض ومع أفضل المعلومات المتاحة فإن إنزيمات TPS , P450 فى تكوين الهورمون النباتى الأولى لحامض الجبريلليك تبدو متحفظة وتفعل قليلاً جداً فى أى تشعيع فى الصنوبر.

٤ – التخليق الحيوى وتراكم دفاعات التربينويدز تتطلب خلايا خاصة

تراكم كميات كبيرة من التربينويدز الكارهة للماء فـى الـراتنج الزيتـى التكـوينى والمحفز (الجرحى) يتطلب تراكيب تشريحية خاصة فى سوق وجذور وأوراق ومخاريط الصنوبر. باستثناء وجود تربينويدز السيسكيو فى فراغات الخلايا الخارجية لهذه التراكيب الخاصة فإن التربينويدز الكارهة للذوبان فى الماء تتداخل مـع العمليـات البيوكيميائيـة وتكامل الأغشية والتركيب الخلوى فى الخلايا المنتجة للتربينويدز . السيسكوتيرنية وتراكم تربينويدز الراتنج الزيتى يمكن أن تتحقق مع تجمعات الراتنج قصيرة العمر أو مع نظـم قنوات الراتنج المعقدة طويلة العمر التى توجد بشيوع فى أنواع الصنوبر التى تنتج كميات كبيرة من الراتنج الزيتى . كجزء من مقدرتها على الزيادة الكثيفة للتخليق الحيوى وتراكم دفاعات التربينودز فإن الصنوبريات تطور كذلك قنوات راتنج جرحية إضـافية (TRD) عندما تجابه بتحديات هجوم الحشرات أو العدوى بالفطر أو اسـتجابة لمحاكـاة هجـوم الحشرات التى تحفز بالمعاملة بالمثيل جـسمونات أو الاثيلـين (Nagy et al . 2000 , Alfaro , 1995) . التكوين الجديد لقنوات الراتنج الجرحية TRD تحدث داخل منطقـة الكامبيوم والطبقات الخارجية للخشب النامى بسبب التغير الانتقالى فى نشاط الكامبيوم الذى يسبب نشوء الخلايا . الطلائية لقناة الراتنج فى مكان التراكيب التـى تكـون الخـشب . استمرارية التجويف بين TRD والقنوات القطرية وقنوات الراتنج فى القلف يكون شـبكة من قناة الراتنج ثلاثية الأبعاد قادرة على تحفيز التخليق الحيوى وتراكم وانسياب الراتنج . التكوين المحفز لقنوات TRD يرتبط بزيادة التخليق الحيوى وتراكم تربينويـدز الـراتنج الزيتى ويتضمن تعبير جينى محفز وأنشطة وإنزيمية للعديد من مونو TPS ، سيـسكوى TPS وداى – TRD ويتضمن كذلك زيادة مستويات النسخ لتكوين أوكتاديكانويد والاثيلين (Miller et al., 2005) . ملامسة قنوات TRD مع خلايا البرانشيمية المصففة قد تمكن من تأشير دفاعات التربينويدز المحفزة بين الخشب والكامبيوم وأنسجة القلف . إذا اخذ فى الاعتبار وفرة مجسات الجين المقابل المتاح من مشاريع EST و FLC DNA's مدمجـة مع موضعية المناعة والهجنة فى الداخل وطرق التشريح الدقيق للخلية أو نسيج خاص فإنه يصبح فى الإمكان اختيار المواقع الخاصة للخلية فى النسخ والبروتينات لتكوين التربينويدز التكوينى والمحفز وتأشير الدفاع فى الصنوبريات .

٥- البيولوجيا الجزيئية لدفاعات التربينويدز ضد الحشرة والمثيل جسمونات فـى الصنوبريات

استخدام المثيل جسمونات لتحفيز الدفاعات الكيميائية التشريحية فى الصنوبريات ذات أهمية محددة فى توصيف الاستجابات الدفاعية للتربينويدز المحفز بالحشرات فـى أنـواع الصنوبر . على غرار تأثير الهجوم الفعلى للحشرات أو العدوى بالفطريات فإن المعاملـة الخارجية للصنوبريات بالمثيل جسمونات تحفز تطور قنوات TRD وتراكم التربينويـدز وكذلك انطلاق التربينويد المتطاير . معاملة الأشجار بالمثيل جسمونات تقدم وسائل عـن طريقها يتم تحفيز استجابات الدفاع فى الصنوبريات بدون أية أضـرار ميكانيكيـة علـى الشجرة . هذا يمثل دور هام ومحدد لكمية دفاعات التربينيودز المحفزة حيث أى ضرر قد يخفض من الكفاءة الحيوية للقلف والكامبيوم أو نسيج الزيلين للاستجابة ولكنه قد يحفز فقد التربينيودز خلال موضع الجرح . بدلاً من ذلك فإن المثيل جسمونات تـسمح بتوصـيف أنشطة الإنزيم المحفز والتعبير الجينى للتخليق الحيوى للتربينويدز فـى الـسوق وأوراق الصنوبريات ويمكن من التحليل الكيفى والنوعى بالتفصيل فى الأشجار المحفزة والمقارنة. هذا الاقتراب يمكن كذلك من توصيف الانبعاث الفعال للتربينويدز المتطايرة من أشـواك صنوبر سيتيكا والصنوبر النرويجى (Miller et al., 2005) .

الكلونة والتوصيف الوظيفى لعائلات إنزيمات Tps P450 فى أنواع الصنوبر تقدم مجموعة ابتدائية من المجسات الكمية لتحليل التعبير الجينى لدفاعات المثيل جـسمونات أو التربينويدز المحفز بالحـشرة (Faldt Ro et al., 2005 , et al., 2003) . إنزيمـات تربينويد سينسيزيس لجميع أقسام الكيميائيات الحيوية تم تحفيزها بواسطة تغذية السوس أو المعاملة بالمثيل جسمونات فى سوق صنوبر سيتكا مع بعض الاستجابات الأقـوى التـى لوحظت فى إنزيمات مونو – Tps وداى - Tps . فى الصنوبر الكثيف وجد كذلك زيـادة كبيرة فى مستويات النسخ المحفز بالمثيل جسمونات لإنزيم داى تربين سينسيز الذى ينـتج بادىء الوسيط لـــ Pt AO . التعبير الجينى لإنزيم Tps وأنشطة Tps تزداد كذلك فـى المجموع الخضرى للصنوبر النرويجى وصنوبر سيتكا بعد التحفيز بالمثيل جـسمونات أو هجوم السوس . التعبير الجينى المحفز لإنزيم Tps فى الصنوبر النرويجى وصنوبر سيتكا يرتبط بزيادة أنشطة الإنزيم Tps ومع التراكم المتزايد لتربينويد الراتنج الزيتى فى السوق أو انفراد التربينويدز المتطايرة من الأشواك . حديثاً ومن خلال العمل على صنوبر سيتيكا تم وضع خرائط مكثفة عن بروفيل التعبير الجينى المحفز بالـسوس لخطـوات إضـافية للتخليق الحيوى للتربيونويدز موضحاً أن إنزيمات Tps , Pt's P450 والقليل من الجينات فى مسارات MEP , MEV هى الناسخات الأقوى المنظمة كثيراً فى استجابات الـدفاع للتربينويدز المحفز بالسوس فى صنوبر ستيكا . بالإضافة إلى التحليل الدقيق عن مـسارح

مع ما يقارب ٢١٨٠٠ من c DNA's في الصنوبر المتبقع تم تعريف آلاف من أنواع النسخ التي تختلف في التعبير استجابة لهجوم الحشرة في صنوبر ستيكا .

٦- تأثيرات تربينويدز الصنوبريات على الحشرات ومسببات الأمراض النباتية المرتبطة بالحشرات

التربينويدز في صورة الراتنجات الزيتية Oleoresins وكذلك الانبعاثات المتطايرة من المكونات المحددة في تداخلات الصنوبر مع الكائنات الأخرى مثل الدفاع والمقاومة ضد الحشرات والممرضات . بوجه عام فإن كيميائيات التربينويدز تستطيع حماية الصنوبر عن طريق عمل حواجز ميكانيكية في صورة زفت أو قار Pitch أو راتنج متبلور عند مواقع الجرح ، أو من خلال السمية ضد الحشرات والممرضات المرتبطة بالحشرات أو إحداث خلل في العمليات الضرورية في بيولوجي الحشرة . بالإضافة إلى ذلك فإنه في نظم الدفاع غير المباشرة فإن تربينويدز الصنوبر قد تعمل كإشارات للمفترسات والطفيليات الخاصة بآكلات النباتات الغازية أو المهاجمة .

الوظائف الخاصة لمركبات التربينويدز كل على حدة في دفاعات أشجار الصنوبر يصعب تحديدها تجريبياً . هذا بينما أن تعقيدات مئات من كيميائيات التربينويدز التي تكون مخاليط الراتنج الزيتي التكويني أو المحفز تميل لتقديم ميزة عن استدامة نظام الدفاع في الصنوبر في الحالة الثابتة والمرنة حيث أن نفس التعقيدات الكيميائية تقدم تحدي مؤثر وصعب أمام الباحثين للوقوف على أنشطة دفاعية خاصة إجبارياً لمركبات التربينويدز . من الممكن كذلك أن مخلوط التربينويدز قد يكون أكثر فاعلية عن كل مركب منفرد . نقصى الطفرات المناسبة في معظم الصنوبريات والعملية البطيئة للتحول الجيني للصنوبريات جعلت من الصعوبة القصوى بوجه عام إحداث المناورة في بروفيل التربينويدز أو مركبات التربينويدز الفردية لتحقيق الوظائف الدفاعية الخاصة في الداخل مع الأشجار السليمة . لذلك فإن معظم الاختبارات للكشف عن فاعلية التربينويدز في الصنوبريات على الحشرات أو الممرضات المرتبطة بالحشرات تعتمد على تعرض الحشرات والممرضات للمركبات المعزولة أو خلائط من هذه المركبات . في هذه التجارب كمثال فإن مركبات سيسكيوتربينويدز الجوفابيون ، الفرنسيول ، والفارنيسال أحدثت خلل في تطور ونضج الحشرات عن طريق التداخل مع نظم الغدد الصماء في الحشرات (Slama et al., 1965) .

نشاط قتل الشجرة لبعض خنافس القلف تتضمن ارتباط هذه الحشرات مع مجتمع الفطريات والبكتريا والبعض منها معروف عنها إحداث المرضية وتساهم مباشرة في موت الشجرة . لذلك يكون من الأهمية الوقوف على تأثير دفاعات التربينويدز مع هذه

الممرضات كذلك . كمثال فإن أحماض راتنج الرايتربين : حمض أبيتيك وحمض أيزوبيما ريك تثبط بشدة إنبات جراثيم فطر الصبغة الزرقاء Ophiostoma ips وهــو ممــرض للصنوبر يعيش تكافليا مع حفار الصنوبر IPs pini أظهرت نفس الدراســة أن حــامض الأبيتيك تثبط نمو الميسيليوم للفطر .

هناك اقترابات عديدة يمكن أن تؤخذ فى الاعتبار عند إجــراء البحــوث المــستقبلية لاختبار دور التربينويدز المنفردة أو مجاميع التربينويدز فى دفاعات الصنوبريات المناورة المستهدفة للتخليق الحيوى للتربينويدز أو الدراسات المتعلقة بالوراثة تقدم معظم الاقترابات المعرفية . كلا الاقترابين يتطلبا رصد ميزانيات كبيرة ولسنوات عديدة وعلى نفس المنوال فإن دراسات الارتباط الوراثى تتطلب توفير مصادر حيوية فى صورة وضع برامج تربية وتجارب المصادر . من حسن الطالع أن المواد الحيوية المطلوبة متــوفرة لدراســة دور التربينويدز التكوينية والجرحية في مقاومة الصنوبر الأبيض وصنوبر سيتكا ضد سوســة . فى صنوبر ستيكا تم تعريف خطوط الإنتاج (Alfare et al., 2002)الصنوبر الأبيض ذات البروفيل شديد التنوع فى التربينويدز الفردية فى دراسات بروفيــل نــواتج التمثيــل والبروفيل الكيميائى وجد مرتبط بالمقاومة ضد سوس الصنوبر الأبيض . فى الدراســات على الصنوبر الأبيض تم الاستقرار على أن تكوين قنوات الــراتنج الجرحيــة المحفــزة بالإصابات الحشرية ترتبط إيجابياً مع المقاومة ضد سوس الصنوبر الأبــيض . اســتخدام المنشط المحفز بالحشرات فى الصنوبر الأبيض سوف يسمح لنا بالمناورة واختبار دفاعات التربينويدز بطريقة أكثر عقلانية عما هو الحال مع التعبير الجينى التكوينى (Godard et al., 2007).

ولو أن التربينويدز تلعب أدواراً هامة فى حماية أشجار الصنوبر ضد الحشرات فإنها ذات دور محدد للهجوم الناجح ضد الصنوبريات بواسطة بعض خنافس القلف وارتباطهــا بالفطر القاتل للشجرة . حديثاً تم تناول تربينويــدز الــصنوبر وفورمونــات التربينويــدز كإشارات فى بيولوجى خنفساء القلف كما تم تناول التكوين الجديد لفورمونات التربينويدز فى خنافس القلف (Raffa et al., 2005) . لقد تأكد أن التربينويدز المتطايرة والمنبعثة من عائل أشجار الصنوبر تعمل ككيميائيات الاتــصالات Semiochemicals لتعريــف أنواع الصنوبر العائل وغير العائل . بمجرد تعرض الشجرة للهجوم بواسطة خنفساء القلف فإن إنزيمات الحشرة والكائنات الدقيقة المرتبطة بالحشرة تكــون مطلوبــة لفقــد ســمية تربينويدز العائل . فيما وراء فقد السمية البسيط فى دفاعــات التربينويــدز فــإن أكــسدة المونوتربينويدز بواسطة خنافس القلف أو بواسطة الفطريات المرتبطة بها تؤدى إلى تكون الفورمونات اللازمة لتنسيق الهجوم الشرس وتزاوج مئات أو آلاف من الحــشرات علــى الأشجار . أظهرت الدراسات الحديثة فى مجال الكيمياء الحيوية والجزيئيــة أن إنزيمــات خنافس القلف P450 تلعب دور محورى فى تحول كيميائيات دفاع العائل الصنوبرى إلى

فورمونات التربينويدز الحشرية (Huber et al.2007) . الهجوم الشرس والكثيف لخنفساء القلف التى تنسق بواسطة فورمونات التربينويدز تسمح للحشرة بسحق واستنزاف النظام الدفاعى للشجرة العائل الكبيرة ومن ثم تسمح للحشرات والممرضات الفطرية بقتل ليس فقط أشجار الصنوبر الفردية ولكن تؤدى إلى حدوث إصابات وبائية تحطم غابة الصنوبر فى مساحات شاسعة تصل لملايين الهكتارات . لقد تأكد الآن أن بعض أنواع خنافس القلف التى تهاجم أشجار الصنوبر قادرة على إنتاج فورمونات المونوتربينويدز الجديدة .

بالإضافة للدور الأساسى للتربينويدز فى تحقيق المقاومة المباشرة فى أشجار الصنوبر فإن نظم الدفاعات غير المباشرة التى تعال بواسطة المواد المتطايرة عن أشجار الصنوبر أصبحت معروفة ومؤكدة فى بعض أنواع الصنوبريات . كمثال فإنه وضع البيض بواسطة ذبابة النشارة Diprion pini تحدث انبعاثات للتربينويدز وغيرها من المواد المتطايرة من صنوبر سكوت مما يؤدى إلى جذب الدبور المتطفل على امتداد ملايين السنين من نشوء أشجار الصنوبر مع الحشرات والكائنات الدقيقة المرتبطة بالحشرات فإن التربينويدز لعبت دوراً وما زالت فى تشكيل العديد من التداخلات الخاصة بين الحشرات والممرضات مع أشجار الصنوبر.

References

Alfaro RI (1995) An induced deense reaction white spruce to attack by the white – pine weevil , pissodes strobe . Can J for Res 25 : 1725 – 1730

Bohlmann J , Meyer – Gauen G , Croteau R (1998a) Plant terpenoid synthases : Molecular biology and phylogenetic analysis . Proc Natl Acad USA 95 : 4126 – 4133

Burke C , Croteau R (2002) Geranyl diphosphate synthase from Abies grandis : cDNA isolation , functional expression , and characterization . Arch Biochem Biophys 405 : 130 – 136

Christianson DW (2006) Structural biology and chemistry of the terpenoid cyclases . Chem Rev 106 : 3412 – 3442

Davis EM , Croteau R (2000) Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes , sesquiterpenes , and diterpenes . Top Curr Chem 209 : 53 – 95

Erbilgin N , Krokene P , Christiansen E , Zeneli G Gershenzon J (2006) Exogenous application of methyl jasmonate elicits defenses in Norway spruce (Picea

abies) and reduces host colonization by the bark bettle Ips typographus . Oecologia 148 : 426 – 436

Franceschi VR , Krokene P , Christiansen E , Krekling T (2005) Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests . New phytol 167 : 353 – 376

Gilg AB , Bearfield JC , Tittiger C, Welch WH , Bloquist GJ (2005) Isolation and functional expression of the first animal geranyl diphosphate synthase and its role in bark beetle pheromone biosynthesis , Proc Natl Acad Sci , USA 102 : 9760 – 9765

Hayashi KI , Kawaide H , Notomi M , Sagiki Y , Matsuo A , Nozaki H (2006) Identification and functional analysis of bifunctional ent – kaurene synthase from the moss physcomitrella patens . FEBS Lett 580 : 6175 – 6181

Hudgins JW , Christiansen E , Franceschi VR , (2003) Methyl jasmonate induces changes mimicking anatomical defenses in diverse members of the pinaceae . Tree physiol 23 : 361 – 371

Keeling CI , Weibhaar S , Lin R , Bohlmann J (2008) Functional plasticity of paralogous diterpene synthases involved in conifer defense . Proc Natl Acad Sci USA , in press

King JN , Alfaro RI , Cartwright C (2004) Genetic resistance of Sitka spruce (Picea sitchensis) populations to the white pine weevil (pissodes strobe) : distribution of resistance . Forestry 4 : 269 – 278

Krkling T , Franceschi VR , Krokene P, Solheim H (2004) Differential anatomical response of Norway spruce stem tissues to sterile and fungus infected inoculations . Trees Struct Funct 18 : 1 – 9

Langenheim JH (2003) Plant resins ; chemistry , evolution , ecology , and ethnobotany . Timber press Inc , Portland OR , p 586

Martin D, Bohlmann J (2005) Molecular biochemistry and genomics of terpenoid defenses in conifers , Rec Adv phytochem 39 : 29 – 56

Mu R , Hilker M (2006) Direct and indirect chemical defense of pine against foliorous insects Trends plant Sci 11 : 351 – 358

Nagy NE , Franceschi VR , Solheim H , Krekling T , Christiansen E (2000) Wound – induced traumatic resin duct development in stems of Norway spruce (Pinaceae) : anatomy and cytochemical traits . Am J Bot 87 : 302 – 313

Phillips MA , Croteau RB (1999) Resin – based defenses in conifers . Trends plant Sci 4 : 184 – 190

Phillips MA , Bohlmann J , Gershenzon (2006) Molecular regulation of induced terpenoid biosynthesis in conifers , phytochem Rev 5 : 179 – 189

Raffa KF , Aukema BH , Erbilgin N , Klepzig KD , Wallin KF (2005) Interactions among conifer terpenoids and bark beetles across ultiple levels of scale : An attempt to understand links between population patterns and physiological processes . Rec Adv phylochem 32 79 – 118

Ralph SG , Jancsik S , Bohlmann (2007b) Dirigent proteins in conifer defense II : Extended gene discovery , phylogeny , and constitutive and stress – induced gene expression in spruce (Picea spp.) phytochemistry 68 : 1974 – 1990

Schmialek P (1963) Compounds with juvenile hormone action . Z Naturforsch 18 : 516 – 519

Stofer Vogel B , Wildung MR , Vogel G Croteau R (1996) Abietadiene synthase from grand fir (Abies grandis) – cDNA isolation , characterization , and bacterial expression of a bifunctional diterpene cyclase involved in resin acid biosynthesis . J Biol Chem 271 : 23262 – 23268

Trapp SC , Croteau R (2001a) Defensive resin biosynthesis in conifers . Annu Rev plant physiol plant Mol Biol 52 : 724

Wise ML , Croteau R (199) Monoterpene biosynthesis . In : Cario OE (ed) Comprehensive natural products chemistry : isoprenoids , including carotenoids and steroids , vol 2. Pergamon Press , Oxford , pp 97 – 154

Zeneli G , Krokene P, Christiansen E , Krekling T , Gershenzon J (2006) Methyl jasmomate treatment of mature Norway spruce (Picea abies) tree increases the accumulation of terpenoid resin components and protects against infection by Ceratocystis polonica , a bark beetle – associated fungus . Tree physiol 26 : 977 - 988

ثانياً : تمثيل الفينيل بروبانويدز المحفز بالجروح والحشرات آكلة النباتات

من مقالة للسادة العلمـــاء Mark A. Bernard and Lars Bastrup - Spohr .

جرح النسيج النباتى سواء بالوسائل الحيوية أو اللا حيوية يؤدى إلى إعادة ترتيب مكثـف للتمثيل مع الأهداف الأولية لعزل النسيج الذى تأثر وتحديد درجة حدوث أى ضرر لاحقاً . فى هذا المقام فإن مركبات الفينيل بروبانويدز الجديدة المخلقة معروف عنها أنهـا تحقـق تأثير مضادات أو مانعات التغذية ومضادات للبكتريا كما يكون لها تأثيرات خلويـة كمـا تعمل على بناء جزيئات تركيبية عملاقة (مثل اللجننة والسوبيرين ...) والتانينات المكثفة . الدراسات المرجعية التى تصف الهيدروكسى سـينامات (ومـشتقاتها) والفلافونويـدز والتانينات المكثفة بمقارنة أدوارها فى التداخلات بين النبات / آكل النبات غير كاملة . هذا ولو أنه من الواضح أن التخليق الحيوى للفينيل الانين وهو البـادىء الـضرورى يحفـز بواسطة التلف الذى يحدث من آكلات النبات ومن ثم يوجد تحفيز منسق النسخ / الإنزيمات المرتبطة مع حمض هيدروكسى سيناميك والفلافونويدز وتكوين التنين المكثف . الدراسات الحديثة على الجينوم أدت للحصول على دليل عن اشتراك العديد من الجينـات اسـتجابة لآكل النبات متضمنة تلك الخاصة بتمثيل الفينيل بروبانويدزات . الخطوات التالية تتضمن بالتأكيد التوصيف الوظيفى لهذه الجينات . التقدم اللاحق يعتمد على امتداد أو توسع التحليل لتداخلات أكثر بين النبات والحشرة وكذلك استكشاف تفاعلات النبات استجابة لآكل النبات أو الجروح على امتداد البرنامج الزمنى . تعريف بيوكيمياء تمثيـل الفنيـل بروبانويـدز لتداخلات خاصة بين النبات والحشرة على كلا مستويى النسخ والإنزيم سوف تؤدى إلـى اكتشاف مسارات جديدة أو تباينات فى المسارات المعروفة . عنـد تعريـف التـداخلات الخاصة بين النبات وآكل النبات مع التباينات فى تمثيل الفينيل بروبانويدز سوف نكـشف الاستراتيجيات التى تستخدم بواسطة النباتات للدفاع عن نفسها ونعرف الكثير عن دور أو أدوار الفينيل بروبانويدز فى هذه العمليات .

M.A. Bemards

Department of Biology , The University of Westem Ontario , London , ON , Canada , N6A 5B7 .

e-mail : bernards@uwo.ca

A. Schaller (ed.), Induce Plant Resistance to Herbicory © Springer Science + Business Media B.V. 2008 .

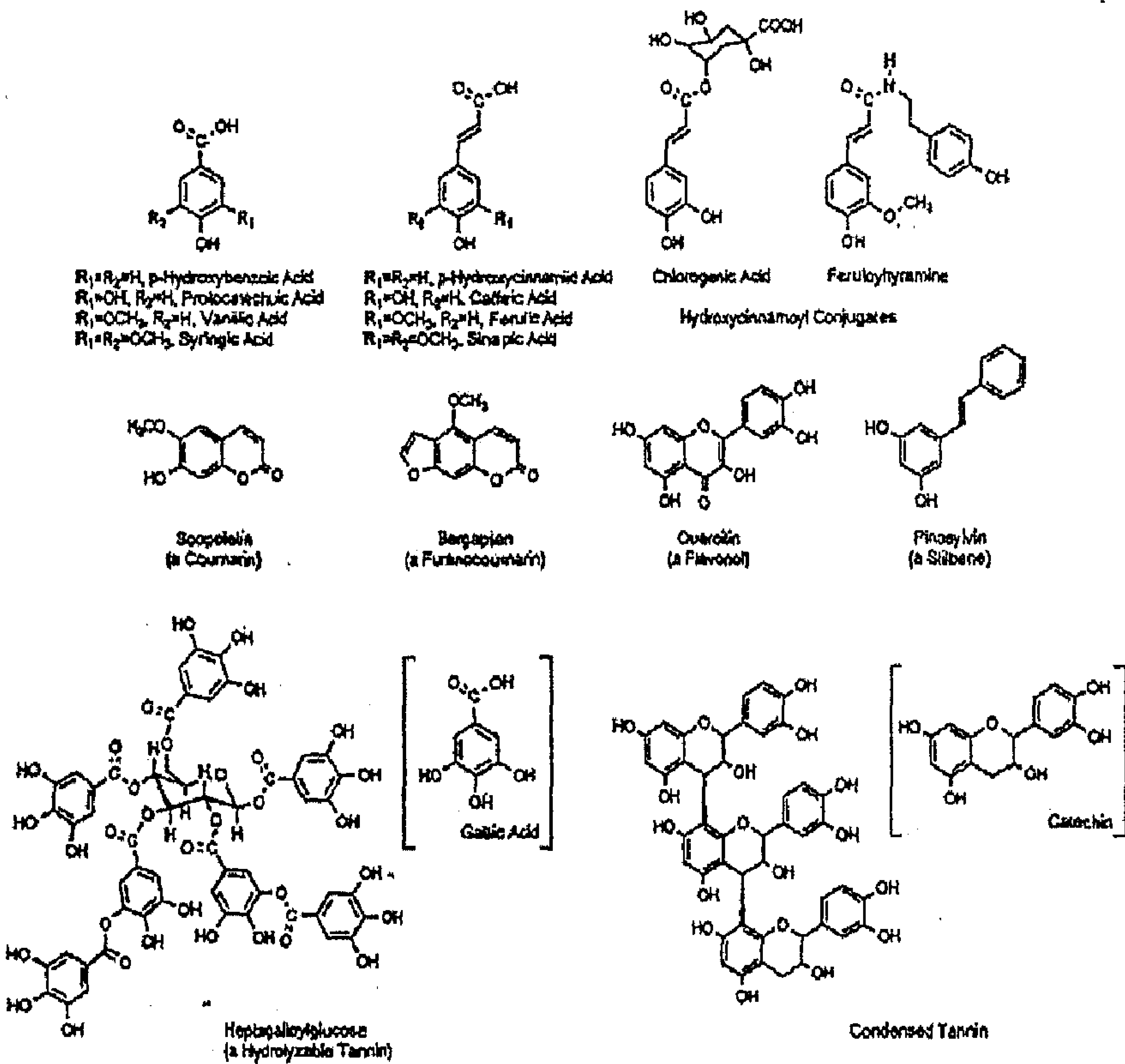
١ – مقدمة

النجاح الشامل للنباتات فى الدفاع عن نفسها ضد آكلات النباتات تعتمد على خليط من كلا الدفاعات سابقة التكوين (الكيميائيات النباتية والحواجز الطبيعية ... الخ) وكذلك على الدفاعات التى تحفز بواسطة القرض أو الثقب أو المص الذى تقوم به الحشرات . فى هذا المقام نقوم بتلخيص مجال تحفيز تمثيل الفينيل بروبانويدز بواسطة الحشرات أو الجروح مع توضيح أنواع الجزيئات المشتركة والإنزيمات والمسارات المرتبطة بتخليقها الحيوى . سوف نبدأ باستعراض أنواع المركبات الفينولية المعروف تراكمها استجابة للجروح أو الإصابة بآكلات الأوراق وبعض من أدوارها المفترضة فى الدفاع ضد الحشرات آكلات الأوراق متبوعة بوصف الدراسات المرجعية للنظم الإنزيمية لتمثيل الفينيل بروبا نويدز التى تحفز بالجروح و / أو آكلات الأوراق . الكثير من الدراسات المرجعية الحديثة ركزت على تحفيز جينات خاصة على مستوى النسخ واستخدام الغربلة العريضة للجينوم لآكلات النباتات والجينات التى تحفز بالجروح باستخدام الترتيب الدقيق المتاح . فى المستقبل هناك حاجة لمزيد من الفهم عن دور الفينولات فى التداخل الشامل بين البطاقات وآفاتها الحشرية والتوصيف الوظيفى لدستات من الجينات المزعوم اشتراكها فى التمثيل المحفز لمركبات الفينيل بروبانويدز .

٢ – مركبات الفينول والتداخلات بين النبات وآكل العشب

٢-١- دور الفينولات فى التداخلات بين النبات وآكل العشب

مركبات الفينولات عبارة عن مركبات عطرية تحمل واحدة أو أكثر من مجموعة الايدروكسيل على حلقة عطرية . الفينيل بوربانويدز عبارة عن مركبات فينولية مشتقة من الفينيل الانين . ولو أنه يوجد ما يزيد عن ٨٠٠٠ مركب فينولى تقسم فى ١٤ قسم من المركبات بناء على عدد ذرات الكربون وترتيبها (Strack,1977) فإن قليل منها تشترك فى التداخلات بين النبات وآكل العشب . من بين هذه المركبات أحماض البنزويك وأحماض الهيدروكسى سيناميك (ونواتج الاقتران) وكذلك الفيورانوكومارنيات والكومارنيات وستلبينات والفلافوتويدز (خاصة الفلافونولات) والتنينات المتحللة مائيا والتانينيات المكثفة (بوليمرات كاتيكين – الشكل ٦-١) واللجنين (Constable , 1999) . الجروح وآكلات العشب تحفز كذلك تكوين تحويرات من جدر الخلايا التى تعتمد على الفينولات العديدة الأخرى خاصة سوبيرين .



شكل (٦-١) : بعض الفينولات المرتبطة بالجروح وآكلات العشب . يلاحظ وجود أمثلة من الأقسام الرئيسية لمركبات الفينول المعروف ارتباطها بأى من استجابات النباتات للجروح الميكانيكية و / أو أكل العشب . بالنسبة للتانينيات فإن تكرار وحدات الفينول موضحة فيما بين الأقواس المربعة .

المركبات الفينولية المختلفة تلعب أدوراً مختلفة فى التداخل بين النبات وآكلى النباتات. كمثال فإن أحماض هيدروكسى سيناميك قد تلعب كروابط عبر جدار الخلية التى تقى وتحمى جدر الخلايا النباتية ضد ضرر القرض (Santiaga et al ., 2005) . التانينات التى تتراكم فى العديد من الأنواع النباتية استجابة لآكلى العشب خاصة داخل الأشجار الأكثر شيوعاً تحقق تأثيرها الحيوى خلال ارتباط البروتين . لقد أتضح أنها تؤثر على أنواع كثيرة من آكلات العشب من الحشرات وحتى الثدييات . فى الحشرات التى تتغذى عادة على التانينات وجدت تملك غشاء سميك نسبياً يبطن طلائية المعى الأوسط . هذا يعتقد أنه دليل نشوى بأن التانينات تلعب دوراً فى التداخلات بين النبات والحشرة .

توجد التانينات أساسا فى الأنواع الخشبية ومن ثم تحدث تأثيرها أوليا على الأنواع التى ترعى على الأشجار (Bernays et al., 1989) .

التانينات المكثفة وغير المكثفة تساهم فى المقدرة الشاملة للأكسدة الخلوية (Barbenenn et al.,2005 , 2006) كما تعمل الفلافونيدز الأخرى . من نواحى الجدل أن الملامح الأساسية الكبرى للفينيل بروبا نودز بوجه عام تتمثل فى خاصية مضاد الأكسدة (حيث يسهل أكسدتها إلى وسائط الكونيون ذات الثبات النسبى) ولكن فى اتجاه المقاومة لآكلات العشب فإن هذا يترجم فى قسم من المركبات التى بمجرد تأكسدها تتداخل مع البروتينات فى القناة الهضمية للحشرات القارضة والثدييات هذا يؤدى إلى خفض شامل فى جودة التغذية للمادة النباتية و / أو تسبب إجهاد تأكسدى فى آكلات العشب (Bi and Felton , 1997) . تأثير مركبات الدفاع على آكلات الأوراق تتفاوت كذلك تبعاً لنوع المركب . كمثال فإن مركبات الدفاع تؤثر على استقرار آكل العشب والتغذية ووضع البيض والنمو والخصوبة والتكاثر (Waling 2000) .

حيث أن العديد من مركبات الفينول (مثل هيدروكسى سينامات ، مقترنات هيدروكسى سيناموبل ، الفلافونيدز) تملك خواص مضادة (Ding et al ., 2000) فإن تراكمها فى الأنسجة المضارة بواسطة الجروح (بما فيها التلف الناتج عن القرض) يلعب دور مزدوج : دفاع مباشر ضد آكلات الأوراق والحماية ضد الممرضات الوافدة . كمثال فإنه فى حالة الاستجابة للجروح فى درنات البطاطس حيث أن الدور الأساسى للتمثيل المحفز للفينيل بروبانويد يبدو أنه يرتبط بتكوين أساس الفينولات العديدة للسوبيرين والفينولات الأخرى (مثل هيدروكسى سيناموبل أميدات ، حامض الكلوروجينيك) التى لا تشترك فقط فى تكوين السوبيرين ولكنه يعمل على تراكمه . فينولات السوبيرين تلعب دوراً فى تكوين الحاجز الطبيعى بينما الفينولات الذائبة تملك صفات مضادة للميكروبات ويفترض أنها تقوم بالحماية ضد مسببات الأمراض .

٢-٢- التراكم التكوينى فى مقابل المحفز للفينولات

الفنيولات تتوزع بشكل عريض فى النباتات وتتراكم خلال النمو والتطور الطبيعى . بالتبعية فإن الفينولات توجد تكوينياً فى النباتات قبل أن يحدث تحفيز للضرر بواسطة الحشرات أو الثدييات آكلة النباتات (مثل الجروح) . فى الحقيقة فإن أدوار الفينولات الدفاعية سابقة التكوين ضد آكلات الأوراق موثقة جيداً (Ding et al., 2000) وتشمل الحواجز الطبيعية مثل جدار الخلية الرابط للفينولات واللجنينات والسوبيرين والفينولات المرتبطة بالكيوتيكل وكذلك المركبات المخزنة التى تطرد آكلات النباتات (مانعات تغذية) أو ذات السمية المباشرة (مبيدات حشرية Walling 2000) . من جهة أخرى فإن الدفاعات المحفزة بخصائص من خلال تخليق مركبات جديدة أو حواجز تركيبية بعد هجوم آكلات العشب التى تحفز الضرر وتشمل كلا نواتج البروتينات والممثلات الثانوية .

الدفاعات المحفزة يمكن أن تعمل موضعياً بالقرب من نقطة الهجوم و / أو جهازياً كما هو الحال ما يحدث خلال النبات .

حيث أن إنتاج المركبات المرتبطة بالدفاع مكلفة تمثيلياً فإن ميكانيكيات الدفاع التكوينية أو المحفزة يمكن أن تظهر استراتيجيتان مختلفتان لتفادى آكلات النباتات . الدفاعات التكوينية توجد دائماً ولكنها مكلفة كثيراً من حيث الطاقة . كمثال فإن التانينات تتراكم كوسيلة دفاع تكوينية فى الأوراق فى أشجار الحور (Arnold et al ., 2004) ولكن درجة التراكم تعتمد أو تتوقف على شدة تغوير الأوراق النامية والارتباط مع استيراد الكربوهيدرات من الأوراق العجوزة . إذا حدث إزالة غوار الأخرى مثل الجذور بواسطة التخريم ومن ثم انقاص المنافسة على الكربوهيدرات تحدث زيادة فى تركيز تانين الأوراق. زيادة تراكم الفينولات ارتباطاً مع شدة تغوير عالية لا يبدو عالمياً أو شائعاً حيث وجدت ظاهرة عكسية في أنواع عاريات البذور Pinus sylvestris حيث كان إنتاج الفنيولات يرتبط مع شدة التغوير .

على نفس المنوال فإن الفينولات تحفز فى الأوراق خشب الحور كاستجابة للرعى بواسطة يرقات الفراشة الغجرية والجرح الميكانيكى والمعاملة بأحماض الجسمونيك . فى هذه الدراسة وجد استجابات الفنيولات فى الأوراق المحفزة بواسطة آكلات الأوراق فى الأيام الأولى من السادس إلى الثامن بعد الانبثاق عندما عومل المجموع الخضرى كله بحمض الجسمونيك . خلال هذه الفترة تتميز الأوراق بوجود شدة تغوير تتضح من خلال نشاط إنزيم جدار الخلية الانفرتيز الذى يسهل عدم تحميل اللحاء للخلايا . لقد وجد الباحث Arnold ومعاونوه ٢٠٠٤ عندما تزال الأوراق مصدر الكربوهيدرات فإن الاستجابة المحفزة لحمض الجسمونيك تنخفض بشكل كبير . هذه النتائج توضح أنه حتى الاستجابة الدفاعية الموضعية فى المجموع الخضرى النامى يعتمد لحد ما على المسافة الطويلة لانتقال الكربوهيدرات من أنسجة المصدر . لذلك فإن دور التانينات فى دفاع النبات وقد تكون فينيل بروباتويدز أخرى مشتركة كذلك لا تعتمد فقط على الأساس الوراثى للنبات لإنتاجها ولكن كذلك على أى مرحلة خاصة توجد عليها الأوراق وإذا كان هناك مصدر للكربوهيدرات لتزويد عناصر الإنتاج .

الدفاعات المحفزة تحدث فقط بعد تلف النسيج . ولو أن هذا يحقق الدفاع مع تكلفة طاقة منخفضة فإنه يحدث بعض الفقد فى الكتلة الحيوية . لذلك فإن النباتات تحتاج لتوازن مصادر الكربون والنتروجين بين هذين النوعين من الدفاعات والنمو الخضرى والثمرى لتأكيد البقاء على المدى الطويل . هذا ولو أنه ليس دائماً يسهل التمييز بين ميكانيكيات الدفاع التكوينى والمحفز حيث أن بعض المركبات المرتبطة بالدفاع تخلق تكوينياً وتخزن كما تخلق بشكل جديد استجابة للضرر الذى حدث بواسطة آكلات الأوراق (Gatehouse 2002).

إضافة إلى هذه التعقيدات فإن مسارات التمثيل المحفز تختلف عندما تتعرض النباتات للأنواع المختلفة من آكلات العشب وحتى مع أنواع النباتات أو الأشجار نفسها . بوجه عام فإن الحشرات ذات أجزاء الفم الثاقبة الماصة تظهر استجابة مشابهة لما يحدث مع الممرضات الفطرية والبكتيرية النباتية بينما الحشرات القارضة تحدث استجابة شبيهة لما تحدثه الجروح الميكانيكية . فى حالة الحشرات القارضة تم الإشارة إلى أن التلف الذى تحدثه الحشرات لا يكافىء ما تحدثه الجروح الميكانيكية فقط حيث أنه وكمثال فإن الحشرات التى تتقيأ Regurgitant تستطيع زيادة الاستجابة لآكل النباتات القارض أكثر من ذلك الذى يحفز بواسطة الجروح الميكانيكية لوحدها (Korth and Dixon , 1977). بالإضافة إلى ذلك فإن بعض النباتات تتفاعل بشكل متخصص لنوع واحد من آكلات العشب أو حتى لطور حياة خاص داخل النوع والذى قد يستجيب لمحتوى اللعاب فى نوع الحشرة. هذا ولو أن الاستجابة فى النباتات لتلف الجرح أو آكل النباتات جنباً إلى جنب فى تمثيل الفينيل بروبانويدز وتراكم مركبات الفنيول تكون هى نفسها بالضرورة حيث أن نفس أنواع المركبات تحفز حتى تتراكم ومن ثم تشترك نفس الإنزيمات فى العملية .

٢-٣- التخليق الحيوى المحفز للمركبات الفينولية

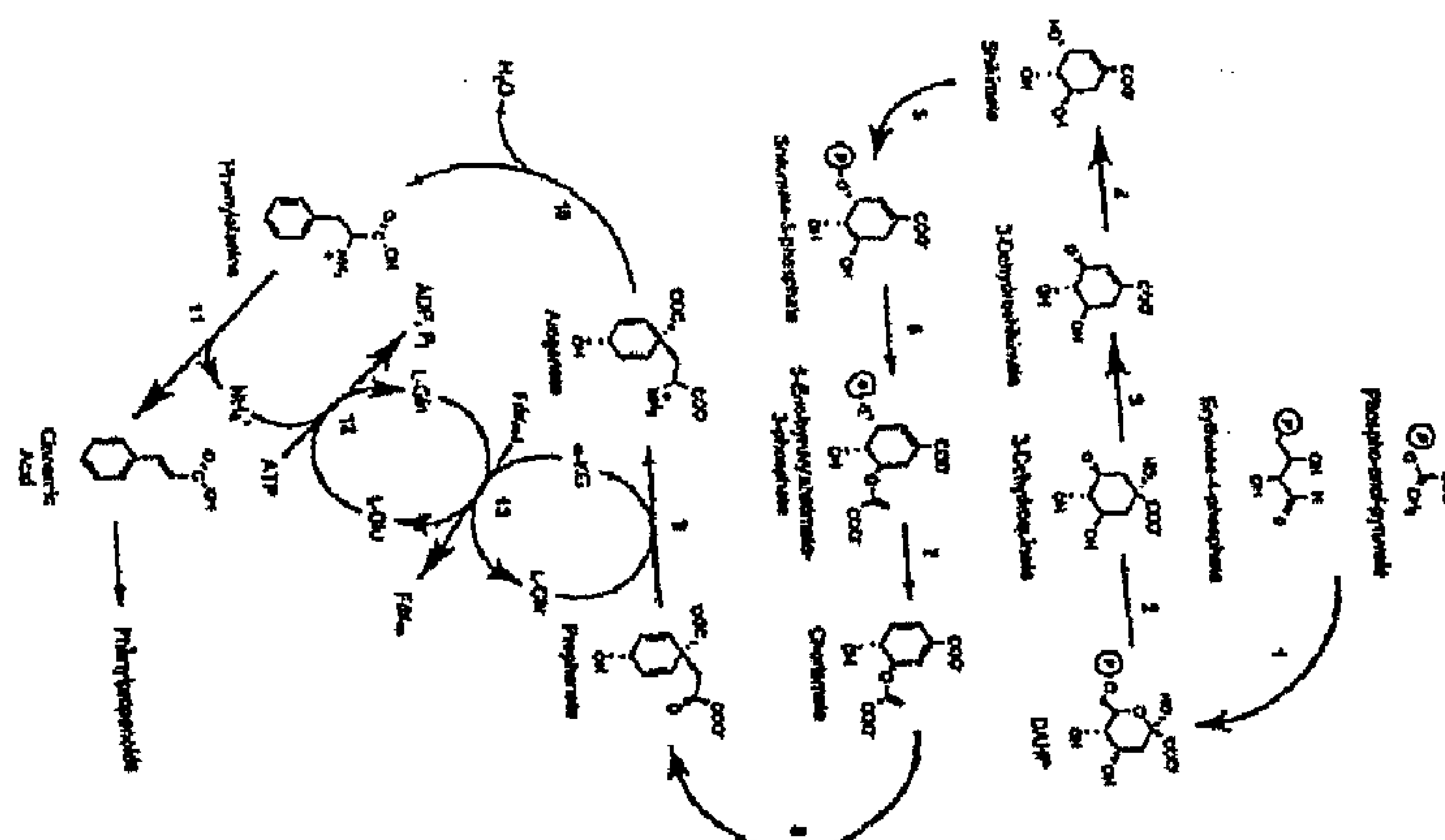
من الناحية التاريخية فإن تمثيل الفينيل بروبانويدز يقسم إلى مرحلتين أساسيتين : التمثيل العام للفينيل بروبانويدز (مثل التخليق الحيوى لأحماض الهيدروكسى سيناميك) والتمثيل ذات المسار الخاص (مثل أحماض هيدروكسى سيناميك كبادئات لأقسام خاصة من الفينيل بروبانويدز أو الكومارينات Strack 1977) . لقد أتضح حديثا أن التحول الداخلى بين أحماض هيدروكسى سيناميك لا يقع بالضرورة داخل مسار عام معروف (Dixon et al ., 2001) وفى الحقيقة يمثل فروعا فى مسارات المركب من القسم الخاص كما يحدث مبكراً مع السينامات (أو سيناموبل – مرافق إنزيمى A-) أو بعد هيدروكسلة ليكون بارا – كيومارات . استنباعاً لذلك فإن التمثيل العام للفينيل بروبانويدز يتكون فقط من خطوتين فقط : فقد الأمين للفينيل الانين بواسطة إنزيم فينيل الانين أمونيا – لييز (PAL) وهيدروكسلة فى ذرة ٤- للسينامات بواسطة إنزيم سينامات -٤- هيدروكسيليز (C4 H) .

الأقسام الرئيسية لمركبات الفينول الذائبة التى تشترك فى استجابة النباتات للجروح وهجوم آكلات النباتات هى أحماض هيدروكسى سيناميك (ونواتج اقترانها ومشتقاتها) . هذا ولو أن التانينيات (عبر الفلافونويدز) وسوف نتناولها فيما بعد . كما أن الفينيل بروبانويدز تشتق من الفينيل الانين والتى تخلق كمركبات جديدة كجزء من الاستجابة الشاملة للجروح أو آكلات النباتات ومن المهم أخذ ذلك فى الاعتبار كمرحلة مبكرة فى التمثيل المحفز للفينيل بروبانويدز .

٢-٣-١- مسار الشيكيميات The Shikmate pathway

الأحماض الأمينية العطرية الثلاثة جميعاً : فينيل الانين وتيروسين وتربتوفان تخلق عبر مسار الشيكميات . بالنظر إلى تمثيل الفينولات المحفز فإن تخليق الفينيل الانين (الشكل ٦-٢ والجدول ٦-١) ذات أهمية خاصة بسبب أن التدفق الكبير للكربون يجب أن يمر خلال هذا الوسيط . الإنزم الأول فى مسار الشيكميات هو ٣- ديوكسى - د - أرابينو - هتبيولوسونات - ٧ - فوسفات (DAHP) سينسيز الذى يساعد فى تكثيف جزىء واحد من كل من فوسفو انيو بيروفات واريسروز - ٤ - فوسفات وكلاهما مواد بادئة تشتق من التمثيل الأولى . لقد أتضح أن إنزيم DAHP سينسيز يحفز عند النسخ والبروتين ومستويات النشاط الإنزيمى فى درنات البطاطس المجروحة وثمار الطماطم (Dyer et al., 1989) . حديثاً تم الكشف عن تنظيم جين إنزيم DAHP سينسيز فى قلف صنوبر سيتكا بعد الجرح الميكانيكى وتغذية السوس وكذلك فى البراعم بعد تغذية يرقات دودة براعم الصنوبر عند مستوى النسخ باستخدام اقتراب برومثيل الجين للتركيب الدقيق (Ralph et al., 2006) . بالإضافة إلى ذلك أتضح شيكيمات كينيز ينظم تنسيقياً مع إنزيم DAHP سينسيز فى نفس الأنسجة . على نفس المنوال فإنه قد أتضح أن الجروح تحفز مستويات النشاط الانزيمى ديهيدروكوينات ديهيدراتيز / شيكيمات ديهيدروجينيز فى البطاطا وإنزيم كوريسمات ميوتيز فى درنات البطاطس . هذه الدراسات أظهرت ارتباط مؤثر بين تمثيل الكربون الأولى والتخليق الجديد للفينولات استجابة للجروح وهجوم آكلات النباتات . لم يثبت اشتراك إنزيمات أخرى فى مسار الشيكيمات بشكل مباشر فى استجابة النباتات للجروح أو لهجوم آكلات النباتات سواء على مستوى النسخ أو البروتين . هذا ولو أن الاستقراء الحديث للجينوم مع التعبير الجينى خلال التكوين النشط للجنين فى أشجار الحور أظهر أن العديد من الجينات فى مسار الشيكيمات تنظم بشكل منسق متضمنة ٣ - ديهيدروكوينات سينسيز ، ٣- ديهيدروكوينات ديهيدراتيز/ شيكيمات ديهيدروجينيز ، شيكيمات كينيز ، كوريسمات سينسيز ، كوريسمات ميوتيز ، افتراض أسبرتات : بروبفينات أميوترانسفيريزيس وأورجينات ديهيدراتيز . بالتأكد لا إنزيم أورجينات ديهيدروجنيز الذى يكون التيروسين من الأروجينات ، ، ولا اى من الجينات المرتبطة بالتخليق الحيوى للتربتوفان (الذى يستبعد فروع مسار الشيكيمات الأساسى) تنظم خلال اللجننة مما يؤدى إلى الاقتراح بوجود عملية خاصة تحد من اشتراك جينات مسار الشيكيمات . لقد لوحظ كذلك حدوث تنظيم متزامن على درجة عالية لجينات الإنزيمات المشاركة فى مسار الشيكيمات وكذلك مسار PAL الذى لوحظ فى مزارع خلايا الطماطم استجابة للمحفزات الفطرية (Gorlach et al., 1995) . لقد أوضحت الدراسات المتعددة حدوث تنظيم منسق لمسار التخليق الحيوى مما يؤدى إلى التزويد ببادىء تمثيل الفينيل بروبانويد . يفترض أن هذا المستوى من التنظيم المنسق

يكون مفعل عندما يحفز تمثيل الفينيل بروبانويدز بواسطة التلف من الجروح أو من جراء هجوم آكلات الأوراق .



شكل (٦-٢) : مسار الشيكيمات وإعادة تدوير النتروجين (N) فى النباتات . مسار حمض الشيكميك من فوسفو إينول بيروفات ، ارثيروز - ٤ - فوسفات إلى الفينيل الانين موضح . العوامل المرافقة والوسائط المرافقة لم توضح . الرجوع إلى الجدول (٦-١) . الأسهم الكبيرة توضح الخطوات التى تظهر مردودات حدوث الجروح وهجوم آكلات العشب ودورها فى التعبير الجينى المحفز و / أو النشاط الانزيمى . الإنزيمات هى :

Enzymes are : (1) 3- deoxy –D- arabino – heptulosonate -7- phosphate (DAHP) synthase ; (2) 3- dehydroquinate synthase ; (3) 3- dehydroquinate dehydratrase ; (4) shikimate dehydrogenase ; (5) shikimate kinase ; (6) 5- enolpyruvylshikimate -3- phosphate (EPSP) synthase ; (7) chorismate synthase ; (8) chorismate mutase ; (9) aspartate : prephenate aminotransferase ; (10) arogenate dehdratase ; (11) phenylalanine ammonia – lyase ; (12) glutamine synthetase ; (13) ferredoxin – dependent glutamine ; 2- oxogllutarate aminotransferese . cl-KG a- ketoglutarate 2 – oxoglutarate) ; Fdx_{red} reduced ferredoxin ; Fdx_{ox} oxidized ferredoxin . (Adapted in part from Razal et al., 1996 ; Strack 1997 ; Croteau et al. 2000) .

جدول (٦-١) : إنزيمات مسارات شيكيمات التى تؤدى إلى تكون الفينيل الانين والجينات المرتبطة بها فى نباتات ارابيدوبسيس

	Enzyme name	E.C number [1]	Reaction catalyzed	Representative Arabidopsis genes[2]
1 [3]	3-Deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate Sythase (DAHPS)	2.5.1.54	Phosphoenolpyruvate + erthrose 4-phosphate + H_2O – 3-Deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate + P_i	At1g22410, At4g33510, At4g39980
2	3-Dehydroquinate Sythase	4.2.3.4	3-Deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-	At5g66120

			phosphate – dehydroquinate + P_i	
3/4	3-Dehydroquinate Dehydratase/Shikimate Dehydrogenase	4.2.1.10/ 1.1.1.25	3-dehydroquinate – 3-dehydroshikimate + H_2O 3-dehydroshikimate + $NADP^+$ - shikimate + NADPH,H^+	At3g06350
5	Shikimate Kinase (SK)	2.7.1.71	Shikimate + ATP – shikimate-3-phosphate + ADP	At1g06890, At1g60530, At2g14050, At2g16790, At2g21940, At2g35500, At3g50950, At3g26900, At4g39540, At5g22370, At5g45210, At5g47050
6	5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate Sythase (EPSPS)	2.5.1.19	Shikimate-3-phosphate + phosphoenolpyruvte – 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate + P_i	At1g48860, At2g45300
7	Chorismate Sythase (CS)	4.2.3.5	5-enolpyruvykshikimate-3-phosphate – chorismate + P_i	At1g48850
8	Chorismate Mutase (CM)	5.4.99.5	Chorismate – prephenate	At1g69370, At3g29200, At5g10870
9	Aspartate-Prephenate Aminotransferase	2.6.1.78	Prephenate + aspartate – arogenate + oxaloacetate	Unknown in Arabidopsis
10	Arogenate Dehydratase (ADT)	4.2.1.91	Arogenate – phenylalanine + CO_2 + H_2O	At1g08250, At1g11790, At2g27820, At3g07630, At3g44720, At5g22630
11	Phenylalanine Ammonia-lyase (PAL)	4.3.1.5	Phenylalanine – cinnamate + NH^+_4	At2g37040, At3g10340, At3g53260, At5g04230
12	Glutamine Synthetase (GS)	6.3.1.2	Glutamate + NH^+_4 + ATP – glutamine + ADP + P_i	At1g48470, At1g66200, At3g17820, At3g53180, At5g16570, At5g35630, At5g37600

تابع جدول (٦-١) : إنزيمات مسارات شيكيمات التى تؤدى إلى تكون الفينيل الانين والجينات المرتبطة بها فى نباتات ارابيدوبسيس

	Enzyme name	E.C number[1]	Reaction catalyzed	Representative Arabidopsis genes[2]
13	Ferredoxin-dependent glutamate synthase	1.4.7.1	Glutamine + 2-oxoglutarate + Fdx_{red} – 2-glutamate + Fdx_{ox}	At2g41220

[1] Enzyme Nomenclature (web version) www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

[2] Gene identifiers are from Ethlting et al. 2005, Ralph et al. 2006, and The Arabidopsis Information Resource (TAIR) (www,Arabidopsis.org). Not all genes listed have been functionally characterized; nor are the lists considered complete.

[3] Enzyme number refer to the corresponding reaction in Fig. 9.2.

من الواضح وجود ارتباط بين الإصابة بآكلات النباتات وحدوث الجروح ميكانيكياً مع تحفيز إنزيم PAL عند مستويات النسخ والبروتين والإنزيم (Qiuju et al., 2005). إنزيم فينيل الانين أمونيا – ليز تعمل كممر للإنزيم فى تمثيل الفينيل بروبانويد . فى هذا المقام نشير إلى أنه حيث أن تمثيل الفينيل الانين يمثل نقطة خروج من مسار الشيكيمات وهذا ما سوف نتناوله بالتفصيل فيما بعد . فقد الأمين فى الفينيل الانين بواسطة إنزيم PAL يؤدى إلى إنتاج مركبين : حامض سيناميك والأمونيا . كما لوحظ قبلاً فإن إنتاج مركبات الدفاع مكلفة من ناحية التمثيل وتكلفة تمثيل الفينيل بروبا تويدز المحفز لكيميائيات الدفاع تكون عالية جداً إذا حدث فقد طول لمول من الأمونيا مع كل مول من ناتج تمثيل الفينيل بروبانويدر المتكون . هذا ولو أن النباتات تشرك نظام تمثيل فعال لإعادة تدوير النتروجين وفيه تنفرد الأمونيا من الفينيل الانين بواسطة إنزيمات PAL الذى يعاد استخدامه فى إنتاج فينيل الانين أكثر (الشكل ٦-٢) . ميكانيكية إعادة التدوير التى تتضمن إنزيمات جلوتامين سنيسيز / فيريدوكسين – جلوتامين ٢- أوكسوجلوتارات أمينو ترانسفيريز (GS/GOGAT) ونظام تمثيل الأمونيا لوحظ فى درنات البطاطس التى تشفى من الجروح (Razal et al ., 1996) . وفى درنات البطاطا وفى مزارع الخلايا اللجننة لشجرة الصنوبر . لذلك فإن الطلب الكبير للفينيل الانين الذى يرجع إلى تمثيل الفينيل بروبا نويد المحفز بالجروح يقابل أو يتحقق بتحفيز مسار الشيكيمات والنظام الفعال لإعادة تدوير النتروجين من العقلانية أن نفترض أن مسارات الشيكمات وإعادة تدوير النتروجين ترتبط بشكل عريض فى التداخلات بن النبات وآكل النبات مما يؤدى إلى تخليق جديد للفينولات ولكن تأكيد هذا الاشتراك غير مؤكد .

٢-٣-٢- التحفيز العام لتمثيل الفينيل بروبانويدز وأصل الهيدروكسى سينامات

تحفيز تمثيل بروبانويدز مفهوم ضمناً فى تراكم مركبات الفينول المتكونة حديثاً فى نباتات عديدة استجابة للتلف بواسطة آكلات النبات مثل أحماض بارا - كوماريك وفيروليك فى القمح المعرضة لآفة Sitodipolis mosellana والذرة المعرض لحشرة Sesamina noonagrioides والتانينات فى أنواع أشجار عديدة والفينولات فى نباتات Medicago trunatuln بواسطة دودة ورق القطن - توجد تقارير قليلة نسبياً تم القياس المباشر لنشاط التخليق الحيوى للفينيل بروبانويد .

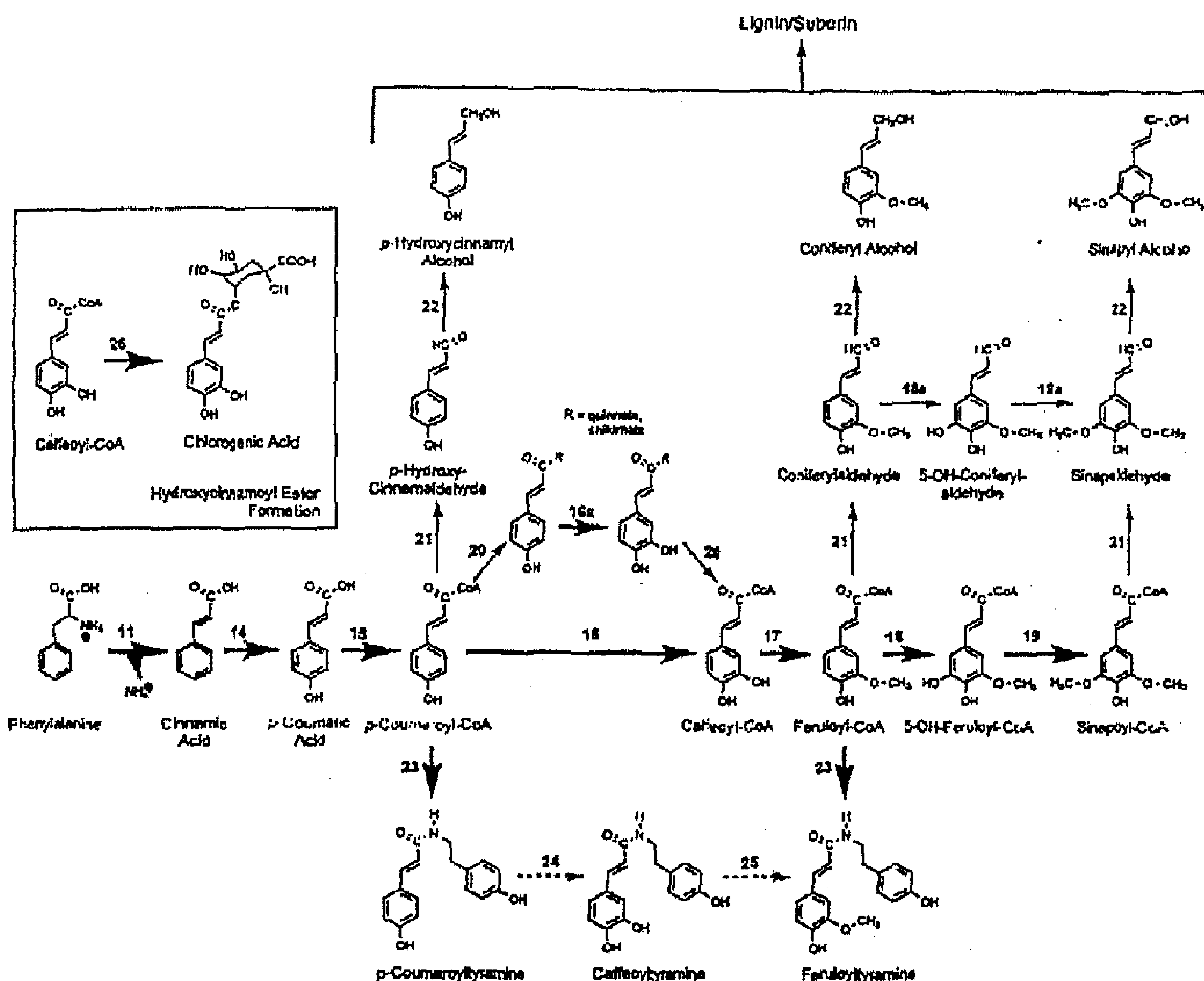
إنزيم فينيل الانين أمونيا - لييز (PAL) هو البداية التى يقدم منها الإنزيم هياكل الكربون ك٦ - ك٣ لتكوين جميع الفينيل بروبانويدز الضرورية ومشتقاتها (الشكل ٦-٣، الجدول ٦-٢) . تحول الفينيل بروبانويدز Phe إلى سينامات + ن يد٤+ يعتبر تفاعل غير عكسى من الناحية الفسيولوجية ومن ثم يعتبر دليل جيد عن تعهد الكربون فى تمثيل الفينيل بروبانويدز . إنزيم PAL يمثل بواسطة عائلة صغيرة من الجينات . كمثال تم تعريف ما لا يقل عن أربعة جينات على أنها PAL فى قاعدة المعلومات لنبات أرابيدوبسيس بينما تم وصف عشرة تتابعات متميزة معبر عنها (EST's) لصنوبر سيتكا (Ralph et al., 2006) . ليس مستغرباً أن هذه الخطوة فى مسار تمثيل الفينيل بروبانويد لاقت الكثير من الاهتمام فى الدراسات المرجعية خاصة فى اتجاه وظيفى يتمثل فى دورها فى تحفيز الإجهاد الحيوى واللا حيوى كما فى الاستجابة لهجوم الممرضات النباتية ، التعرض للأشعة فوق البنفسجية وحدوث الجروح ... الخ . من منطلق التحفيز من جراء هجوم آكلى النباتات تم القياس المباشر لزيادة نشاط PAL فى قليل من نظم الحشرة / النبات كما فى الحالات :

e.g.,Helicoverpa zea damaged soybean leaves (Bi and Felton 1995); Apocheima pilosaria damaged birch (Hartley and Firn 1989) ; gypsy moth larvae damaged poplar leaves (Arnold et al. 2004) .

على مستوى النسخ أتضح أن إنزيم PAL يحفز بواسطة التلف الذى تحدثه الحشرات فى نباتات الأرابيدوبسيس وصنوبر ستيكا . يوجد العديد من الأمثلة عن إنزيم PAL المحفز بالجروح وكلاهما على مستوى النسخ (Devoto et al., 2005) .

إنزيم سينامات -٤- هيدروكسيليز (C4H) تساعد وتحفز العديد من تفاعلات الهيدروكسلة الأولى فى تمثيل الفينيل بروبانويدز (الشكل ٦-٣) مما يؤدى إلى تخليق المركب الفينولى الأول حامض بارا - كوماريك فى مسار تمثيل الفينيل بروبانويد (شكل ٦-٣) . الإنزيم سيتوكروم ٤٥٠ - مونواكسجنيز تحت عائلة Cyp 73A . إنزيم

سينامات ٤- هيدروكسيليز يحفز على مستوى النسخ فى صنوبر ستيكا المضار بـالجروح والحشرات وفى سيقان أشجار الحور الملجننة .



شكل (٦-٣) : التخليق الحيوى لأحماض هيدروكسى سيناميك ومقترناتها ومشتقاتها . التخليـق الحيـوى للهيدروكسى سينامات ، مقترنات هيدروكسى سينامويل ومشتقات الهيدروكسى سينامات موضحة فى الشكل . العوامل المرافقة والوسائط المرافقة غير موضحة . يمكن الرجوع للجدول (٦-٢) . الأسهم الكبيرة توضح الخطوات التى توضـح أن الجـروح و / أو هجوم آكلات النباتات تؤدى إلى تعبير جينى محفز و / أو نشاط إنزيمى بينما الأسـهم المشرطة .... تمثل خطوات افتراضية . الإنزيمات المشاركة هى :

(11) phenylalanine anmonia – lyase ; (14) cinnamate -4- hydroxylase ; (15) 4-coumaroyl – CoA ligase ; (16/6a) coumarate -3 hydroxylase ; (17) caffeoyl – CoA O- methylransferase ; (18/8a) ferulate -5- hydroxylae ; (19/19a) caffieic acid / 5 hydroxyferulic aid O- methyltransferase ; (20) hydroxycinnamoyl CoA ; shikimate / quinate hydroxycinnamoylransferase ; (21) cinnamoyl – CoA reductase ; (22) cinnamyl alcohol dehydrogenase ; (23) hydroxycinnamoyl CoA ; tyramine hydroxycinnamoyltransferase ; (24) p- coumaroyltyltyamine -3- hydroxylase ; (25) caffeoyltyramine O- methyltransferase ; (26) caffeoyl CoA ; quinate

caffeoyltransferase . (Adapted in part from Strack 1997 ; Croteau et al. 2000 ; Humphreys and Chapple 2002) .

على نفس المنوال فإن نسخ C4H فى خرشوف القدس وأوراق كامبوتوثيكا اكيوميناتا (Kin et al., 2005) استجابة للجروح تم حدوثه . تكوين حامض بارا – كوماريك يمثل خطوة حرجة ومحددة فى تمثيل الفينل بروبانويدز حيث أن هذا الوسيط يمكن أن يستخدم كبادىء لعدد وافر من المنتجات النهائية (أشكال ٦-٣ ، ٦-٤) . كمثال البارا – كوماروويل – المرافق الإنزيمى A هو البادىء المباشر لجميع الفلافونويدز (الشكل ٦-٤) وفى النهاية التانينات المكثفة والمونولجنولات (من خلال بارا – كوماروويل كوينات أو البارا – كوماريل شيكيمات كوسائط) وكذلك مقترنات الهيدروكسى سيناموويل (مثل هيدروكسى سينا مويل تيرامينات) . من الشائع كذلك هذا الوسيط لعمليات الهيدروكسلة والمثيلة لتكوين نظم إحلالية عطرية متميزة من الفينولات .

جدول (٦-٢) : إنزيمات تمثيل الفينيل بروبا نويد التى تؤدى إلى إنتاج أحماض هيدروكسى سيناميك ومقترناتها والجينات المرتبطة بها فى نباتات أرابيدوبسيس .

Enzyme name		E.C number[1]	Reacton catalyzed	Representative Arabidopsis genes[2]
14[3]	Cinnamate-4-Hydroxylase (C4H) (CYP73A)	1.14.13.11	\cinnamate + NADPH,H^+ + O_2 – p-coumarate + $NADP^+$ + H_2O	At2g30490, At2g30160, At2g30600, At2g30580
15	4-Coumaroyl-CoA Ligase (4CL)	6.2.1.12	p-coumarate + coenzyme A + ATP – p-coumaroyl-CoA + AMP + PP_i	At1g51680, At1g65060, At3g21230, At3g21240
16 / 16a	Coumarate-3-Hydroxylase (C3H) (CYP98A)	1.14.13.36	p-coumaroyl-CoA (quinate / shikimate) + NADPH,H^+ + O_2 – caffeoyl-CoA (quinate/shikimate) + $NADP^+$ + H_2O	At1g74540, At1g74550, At2g40890
17	Caffeoyl-CoA O-Methyltransferase (CoAOMT)	2.1.1.104	Caffeoyl-CoA + S-adenosyl-L-methionine – feruloyl-CoA + S-adenosyl-L- homocysteine	At1g24735, At1g67980, At1g67990, At3g61990, At4g26220, At4g34050
18 / 18a	Ferulate-5-Hydroxylase (F5H) (CYP84A)	1.14.13.XX	Ferulate + NADPH,H^+ + O_2 – 5-hydroxyferulate + $NADP^+$ + H_2O	At4g36220, At5g04330
19 / 19a	Caffeic Acid/5-Hydroxyferulic acid O-Methyltransferase (COMT)	2.1.1.68	Caffeate/5-hydroxyferulate + S-adenosyl-L-methionine – ferulate / sinapate + S-adenosy-L-	At5g54160

			homocysteine	
20	Hydroxycinnamoyl CoA: Shikimate / Quinate hydroxycinnamoyltransferase (CST/QST)	2.3.1.33	p-coumaroyl-CoA + quinate / shikimate – p-coumaroyl-quinate / shikimate + coenzyme A	At5g48930
21	Cinnamoyl-CoA Reductase (CCR)	1.2.1.44	Hydroxycinnamoyl-CoA + NADPH,H^+ - hydroxycinnamaldehyde + $NADP^+$ + coenzyme A	At1g15950, At1g82820

تابع جدول (٦-٢) : إنزيمات تمثيل الفينيل بروبا نويد التى تؤدى إلى إنتاج أحماض هيدروكسى سيناميك ومقترناتها والجينات المرتبطة بها فى نباتات أرابيدوبسيس .

	Enzyme name	E.C number[1]	Reacton catalyzed	Representative Arabidopsis genes[2]
22	Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase (CAD)	1.1.1.195	Hydroxycinnamaldehyde + NADPH,H^+ - hydroxycinnamyl alchol + $NADP^+$	At1g72680, At3g19450, At4g34230
23	Hydroxycinnamoyl CoA – Tyramine hydroxycinnamoyltransferase	2.3.1.XX	Hydroxycinnamoyl-CoA + tyramine – hydroxycinnamoyltyramine + coenzyme A	Unknown in Arabidopsis
24	p-Coumaroyltyramine-3-hydroxylase (CT3H)	1.14.13.XX	p-coumaroyltyramine + NADPH,H^+ + O_2 – caffeoyltyramine + $NADP^+$ + H_2O	Unknown in Arabidopsis
25	Caffeoyltyramine O-Methyltransferase (CTOMT)	2.1.1.XX	Caffeoyltyramine + S-adenosyl-L-methionine – feruloyltyramine + S-adenosyl-L-homocysteine	Unknown in Arabidopsis
26	Caffeoyl CoA: Quinate caffeoyltransferase (CQC)	2.3.1.99	Caffeoyl-CoA + quinate – caffeoylquinate + coenzyme A	Unknown in Arabidopsis

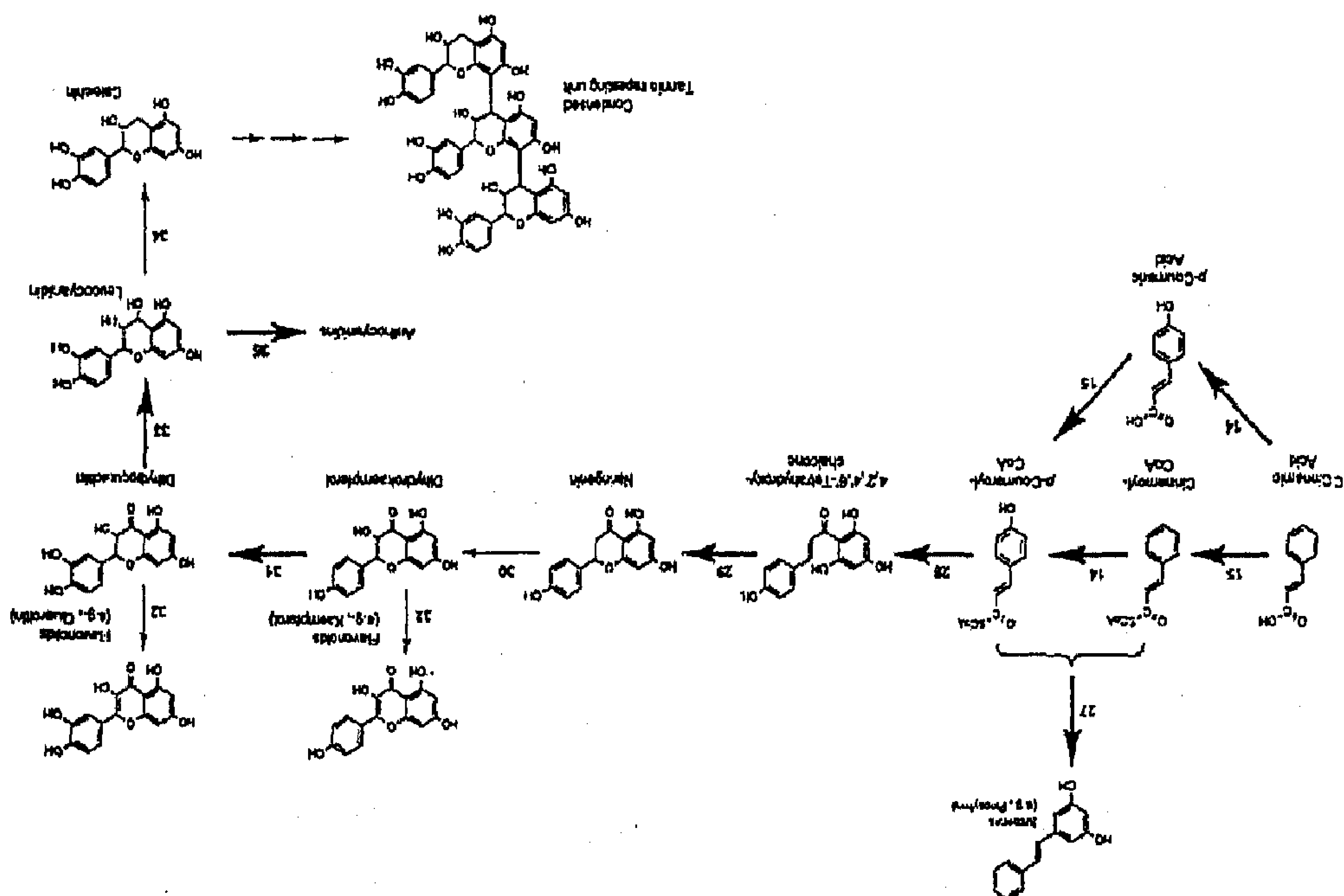
[1] Enzyme Nomenclature (web version) www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

[2] Gene identifiers are from Ethlting et al. 2005, Ralph et al. 2006, and The Arabidopsis Information Resource (TAIR) (www.Arabidopsis.org). Not all genes listed have been functionally characterized; nor are the lists considered complete.

[3] Enzyme number refer to the corresponding reaction in Fig. 9.3.

من الناحية التاريخية فإن هيدروكسلة تحت تركيب بارا – كوماروييل يحدث عند مستوى ثيوإستر – المرافق الإنزيمى A ولو أنه فى منظومة تكوين المونوليجنول أتضح

أن هذا التفاعل يحدث بعد نقل الاستر للشيكيمات أو الكوينات (Schoch et al, 2001). بصرف النظر عن تكوين ثيواستر – المرافق الانزيمى A من خلال إنزيم ٤– كوماروويل – ليجيز – مرافق إنزيم A (4CL) فإنها خطوة تنشيطية هامة . كما هـو ثابـت فـإن إنزيمات PAL و 4CL تمثل بواسطة عائلة جين فى النباتات مع مدى من جينات تـشابه 4CL عرفت عبر تحليل التتابع المشابه وملاحظة نظام التنسيق فيها خلال اللجننة . مـن بين هذه المنظومة فإن ١٥ من الجينات المشابهة 4CL / 4CL تحفز بواسـطة الجـروح والتلف بواسطة السوس و / أو التلف من هجوم دودة البراعم فى صنوبر سـتيكا . علـى نفس المنوال فإن 4CL's تحفز بواسطة الجروح عند مستوى النسخ فى العديد من أنـواع النباتات الأخرى بما فيها البقدونس والدخان والتى تحمل أحد جينـات البقـدونس وعلـى المستوى الانزيمى فى درنات البطاطس (Bernards et al., 2000) .



شكل (٦–٤) : التخليق الحيوى للفلافونويدز والاستيلبنيز والتانينات المكثفـة . العوامـل المرافقـة والوسائط المرافقة غير موضحة . يمكن الرجوع للجدول (٦–٣) . الأسهم السوداء الثقيلة توضح خطوات مخرجات تأثيرات الجروح / أو هجوم آكلات النباتات فى تحفيز التعبير الجينى و / أو النشاط الإنزيمى . الإنزيمات هى :

(14) cinnamate -4- hydroxylase ; (15) 4- coumaroyl – CoA ligase ; (27) stilbene synthase ; (28) chalcone synthase ; (29) chalcone isomerase ; (30) flavonone 3-hydroxylase ; (31) flavonoid 3' – hydroxylase ; (32) flavonol synthase ; (33) dihydroflavonol 4- reductase ; (34) leucoanthoyanidin reductase ; (35) anthocyanidin synthase (leucoanthocyanidin dixoygenase). (Adapted in part from strack 1997 ; Croteau et al, 2000) .

إنزيم كومارات -٣- هيدروكسيليز (H_3 , Cyp 98 A) يحفز ويساعد في هيدروكسلة بارا – كومارات لتكوين إحلال حلقة كافيول (أورثو – ديهيدروكسي) الشائعة في العديد من الفينولات . كما هو الحال مع 4CL ونسخ CH_3H تحفز بواسطة الجروح والضرر من هجوم السوس و / أو الضرر بواسطة دودة البراعم في صنوبر سيتكا وتنظم بشكل كبير وتنسيق مؤازر خلال اللجننة (Ehlting et al., 2005) . المثلة المتتابعة (كافيول – مرافق إنزيمي A – أوكسي – ميثيل ترانسفيريز ، (Caffeoyl – CoA –O- methyltransferase ; CCoAOMT and / or caffeic acid / 5-hydroxyferulic acid O- methyltransferase ; COMT) and 5-hydroxylation (ferulate -5- hydroxylase ; F5H ; CYP84AA) لإنتاج guaiacyl – and syringul – subbostituted hydroxycinnamates عن طريق إتباع نظم تعبير مشابه بعد الجروح وحادث الضرر من آكلات النباتات (Reymond et al. 2004) أو خلال التطور (Ehlting et al ., 2005) . تتابعاً فإن تكوين الفينيل بروبا نويدز مع نظم إحلال تقليدي للحلقة يسهل تحقيقه استجابة للجروح والضرر من قرض الحشرات للنسيج النباتي في نظام متناسق . هذا ولو أنه مع بعض الاستثناءات مع بعض التداخلات بين النبات والحشرة فإن أحماض هيدروكسي سيناميك نفسها لا تتراكم بوجه عام استجابة للتلف الذي تحدثه الحشرات أو الجروح ولكنها بدلاً من ذلك تعمل كبادئات لمشتقات الفينيل بروبانويد الأخرى التي تعملها ومن ثم فإنه في هذا الخصوص فإن المنتجات النهائية الخاصة مع بعضها البعض والتمثيل المتميز تؤدي للحصول عليها وتفرق بين استجابات النباتات المختلفة للمنشطات البيئية بما فيها التلف من الحشرات .

جدول (٦-٣) : الإنزيمات المختارة لتخليق الفلافونويدز والاستيلبييز والجينات المشتركة في نباتات أرابيدوبسيس .

	Enzyme name	E.C number[1]	Reacton catalyzed	Representative Arabidopsis genes[2]
27 3	Stilbene Synthase (STS)	2.3.1.146	Cinnamoyl-CoA + 3 malonyl-CoA – pinosylvin + 4 coenzyme A + $4CO_2$	Unknown in Arabidopsis

28	Chalcone Synthase (CHS)	2.3.1.74	p-coumaroyl-CoA + 3 malonyl-CoA – naringenin chalcone + 4 coenzyme A + $3CO_2$	At1g02050, At4g00040, At4g34850, At5g13930
29	Chalcone Isomerase (CHI)	5.5.1.6	Naringenin chalcone – naringenin	At1g53520, At5g05270, At3g55120, Att5g66220
30	Flavanone 3-Hydroxylase (FHT)	1.14.11.9	Naringenin + 2-oxoglutarate – O_2 – dihydrokaempferol + succinate + CO_2 + H_2O	At1g78550, At3g19000, At3g51240, At4g10490, At4g16330, At5g24530
31	Flavonoid 3'-Hydroxylase (F3H)	1.14.13.21	Dihydrokaempferol + NADPH,H^+ + O_2 – dihydroquercitin + $NADP^+$ + H_2O	At5g07990
32	Flavonol Synthase (FLS)	1.14.11.23	Dihydrokaempferol/ dihydroquercitin + 2-oxoglutarate + O_2 – kaempferol/ quercitin + succinate + CO_2 + H_2O	At1g49390, At2g44800, At3g19010, At3g50210, At5g08640, At5g43935, At5g63580, At5g63950, At5g63595, At5g63600
33	Dihydroflavonol 4-Reductase (DFR)	1.1.1.219	Quercitin + NADPH,H^+ - leucocyanidin + $NADP^+$	At5g42800
34	Leucoanthocyanidin Reductase (LAR)	1.17.1.3	Leucocyanidin + NADPH,H^+ - catechin + $NADP^+$ + H_2O	At1g61720
35	Anthocyanidin Synthase (ANS) (Leucoanthocyanidin Dioxygenase)	1.14.11.19	Leuco(antho)cyanidin + 2-oxoglutarate + O_2 – anthocyanidin + succinate + CO_2 + $2H_2O$	At2g38240, At4g22880

[1] Enzyme Nomenclature (web version) www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

[2] Gene identifiers are from Ethlting et al. 2005, Ralph et al. 2006, and The Arabidopsis Information Resource (TAIR) (www,Arabidopsis.org). Not all genes listed have been functionally characterized; nor are the lists considered complete.

[3] Enzyme number refer to the corresponding reaction in Fig. 9.4.

تكوين الحواجز الطبيعية مثل اللجنين والسوبيرين استجابة للجروح موثقة جيداً . واحدة من الخطوات الحرجة التي تشرك هياكل الكربون في تكون اللجنولات الأحادية (هياكل البناء الضرورية لكل اللجنين والسوبيرين) تحفز بواسطة إنزيم سيتامول – مرافق الإنزيم A أوكسى ريدكتاز (CCR) الذى يختزل هيدروكسى مشتقات هيدروكسى سيتامول – مرافق الإنزيم A لأحماض هيدروكسى سيناميك للالدهيدات المقابلة (الشكل ٦–٣ والجدول ٦–٢) . هذا ولو أن CCR ينظم فى تنسيق عالى مع الجينات الأخرى للخطوات المبكرة لتمثيل الفينيل بروبا نويدز خلال اللجننة فإنه يبدو وأن التنظيم المتدنى مع آكلات الأعشاب والبراعم والسوس . هذا التناقص الواضح يمثل مثال هام الذى فيه يكون فيه الجروح والحشرات التى تحفز الأنسجة النباتية غير متكافئة . بدلاً من ذلك فإن الهيدروكسى سينامات التى تنتج فى صنوبر سيتيكا بواسطة جينات التنظيم العالى للخطوات المبكرة فى مسار الفينيل بروبا نويدز يبدو أنه يمثل فى الفلافونويدز .

الجروح الميكانيكية تؤدى إلى تراكم العديد من مقترنات الهيدروكسى سينامول مثل حامض كلوروجينيك وأميدات هيدروكسى سينامول من البطاطس والطماطم . بالنظر للهيدروكسى سينامول تايرينامات موافق الإنزيم A إنزيم اثيرامين هيدروكسى سيناموبل ترانسفيريز (HTH) أتضح أنها تحفز بواسطة الجروح التى تستخدم أيا من بارا – كوماروبل – لمرافق إنزيم A أو فيريوليل – مرافق انزيمى A كما فى مانح هيدروكسى سينامول (الشكل ٦–٣) . من المثير للدهشة أنه حتى مع خلال فيريوليل تيرامين يبدو أنه يغرس فى أساس الفينول من سوبيرين الجروح وهو مشتق البارا – كوماروبل التى تتراكم عندما يثبط تكوين الفينولات العديدة . لقد تم قياس إنزيم كومارات –٣– هيدروكسيليز (C3H) الذى يستخدم بارا – كوماروبل تيرامين كوسيط فى درنات البطاطس التى تشفى من الجروح . هذه النتيجة أكدت على الدور المركزى للبارا – كومارميل مرافق إنزيم A فى تمثيل حامض هيدروكسى سيناميك وكذلك قوة استخدام الجروح التى تحفز الأنسجة سواء ميكانيكياً أو من جراء الإصابة بآكلات الأوراق كمصدر لاكتشاف الكيمياء الحيوية الجديدة .

٢–٣–٣– الفلافونويدز والتانينيات

الفلافونويدز عبارة عن مركبات تحتوى على هيكل أجليكون من ١٥ ذرة كربون وتكون هياكل بناء التانينات المكثفة (الشكل ٦–٤ ، جدول ٦–٣) . المركب الأول فى المسار هو نارابنجينين جالكون (٢,٤" ، ٦,٤" – تتراهيدوركى كالكون) تتكون بواسطة تكثيف البارا – كوماروبل – مرافق إنزيم A مع ثلاثة جزيئات من مالونيل – مرافق انزيمى A الذى يحفز بواسطة إنزيم كالكون سينسيز (CHS) . الكالكون سينسيز يعتبر الإنزيم المحدد فى مسار الفلافونويدز (Strock , 1997) وقد أتضح أنه يحفز عند كلا مستوى البرونين والنسخ بواسطة الجروح فى الصنوبر النرويجى والأبيض على التوالى

وكذلك عند مستوى النسخ بواسطة الجروح والإصابة بالسوس وحشرة البراعم فى صنوبر ستيكا . من المثير للدهشة أن إنزيم ستيلين سينسيز الذى يساعد فى نفس تفاعل التكثيف مثل CHS ولكنه يؤدى إلى اختلافات فى الانثناءات والحلقية المتتابعة لإنتاج ستيلبينويز (مثل بينوسلفين – الشكل ٦-٤) وهو يحفز كذلك على مستوى البروتين بواسطة الجروح فى الصنوبر النرويجى وعند مستوى النسخ بواسطة الجروح والإصابة بالسوس أو دودة البراعم فى صنوبر سيتيكا . يفترض أن التخليق المشترك للاستيليبنات والتانينات المكثفة (من الفلافونويدز المشتقة مع CHS) تمثل الاستجابة الأكيدة الراسخة لكلا الحشرات المطرودة ومنع مسببات الأمراض النباتية من تثبيت نفسها مع الأنسجة المجروحة .

نارينجينين كالكلون تتحول إلى نارينجينية عبر غلق الحلقة فراغياً بشكل متخصص وخطوة المشابهات التى تحفز بواسطة إنزيم كالكون أيزوميريز (CHI) . نسخ إنزيم كالكون أيزوميريز يحفز بواسطة الجروح وهجوم السوس و / أو دودة البراعم فى صنوبر سيتكا . المآل التمثيلى للنارينجيسنين ذات أهمية فى تفريع التخليق الحيوى للفلافونويدز مما يعطى الفلافونولات (مثل كامبينرول ، كوبركتين) ديهيدروفلافونولز (مثل ديهيدروكامبينيرول ، ديهيدروكويريكتين) والأيزوفلافونويدز (مثل جينستين) والفلافونات (مثل أبيجينين) يشار لهذه المركبات على أنها فلافونويدز . هذا ولو أنه أتفق على أن الفلافونويدز نفسها ذات تأثيرات طاردة على الحشرات الآكلة للنباتات (Treutter 2005) , وهى ليست دائمة كما فى التانينيات المكثفة بالنظر للتداخلات بين النبات والحشرة .

التانينات المكثفة يطلق عليها بروأنثوسيا نيدنيات وتتكون من ارتباط تكافؤى للفلافان -٤- أولز (مثل كاتيكين) و / أو فلافان ٤،٣ – ديولز (الشكل ٦-٤) . فى صنوبر ستيكا فإن النسخ لخطوات عديدة فاتحة فى تكوين (+) – كاتيكين (المونومير المكثف الرئيسى للتانين) يحفز مرات عديدة بواسطة الجروح و / أو الإصابة بالسوس أو الإصابة بدودة البراعم . هذه تشمل إنزيم فلافونويد ٣" -هيدوركسيليز (إنزيم Cyp 75B1 الذى يحلل مائياً ديهيدروكيمبفيرول لإنتاج ديهيدروكويرسكتين) وإنزيم ديهيدروفلافونول -٤- ريدكتاز . هذا الجين الأخير الذى يشطر للإنزيم الذى يساعد على اختزال ٤" – كيتون للتركيب فى حلقة الديهيدروفلافونول لإنتاج فلافان – ٤،٣ – ديول ليكوسيانيدين وهذه تمثل خطوة محددة فى تكوين التانينات المكثفة . أوضح الباحثان Peter and Constadel عام ٢٠٠٢ أنه (بالإضافة إلى تراكم التانينات المكثفة) فإن الإصابة بآكلات العشب تحفز تعبير هذا الإنزيم . إنزيم ديهيدروفلافونول ٤- ريدكتاز يساعد فى إتمام الخطوة قبل الأخيرة فى المسار لتكثيف التانينات وهى الخطوة الأخيرة المعروفة والتى تحول ليكو (أنثو) سيانيدين إلى (+) – كاتيكين والذى يحفز بواسطة إنزيم ليكو أنثوسانيدين ريدكتاز. لا توجد تقارير تشير إلى أن هذا الإنزيم يحفز بواسطة الجروح أو هجوم آكلات

النباتات . على نفس المنوال فإن الخطوة المحددة لتحول نارينجينين إلى ديهيدروكيمبثيرول والتي تحفز بواسطة فلافونون ٣- هيدروكسيليز (٢- أوكسوجلوتورات - الذى يعتمد عليه إنزيم ديوكسيجينيز) لا يبدو أنه يحفز . يبدو أن هناك نشاط تكوينى كافى لهذه الإنزيمات الفاتحة والأخير هام كذلك فى تكوين الفلافونويدز الأخرى لتعضيد التراكم المحفز بالجروح وهجوم آكلات العشب . من المثير للاهتمام أنه فى صنوبر سيتكا الذى يستجيب للجروح والسوس ودودة البراعم يحدث تحفيز لجين إنزيم أنثوسيا نيدين سينسيز (ليكو أنثوسيانيدين ديوكسيجنيز) . الإنزيم الناتج من هذا الجين يحفز الخطوة الأولى فى تكوين مركب الأنثوسيانيدين من الليكوسيانيدين ومن ثم يمثل بديل لهياكل الكربون اللازمة للتخليق الحيوى للتانينات .

References

Arnold T, Appel H, Patel V, Stochum E, Kavalie A, Schultz J (2004) Carbohydrate translocation determines the phenolic content of Populus foliage: a test of the sink-source model of plant defense. New Phytol 164:157-164

Barbehenn RV, Jones CP, Karonen M, Salminen J-P (2006) Tannin composition affects the oxidative activites of tree leaves. J Chem Ecol 32:2235-2251

Brignolas F, Lacroix B, Lieutier F, Sauvard D, Drouet A, Claudot A-C, Yart A, Berryman AA, Christiansen E (1995) Induced responses in phenolic metabolism in two Norway spruce clones after wounding and inoculations with Ophiostoma polonicum, a bark beetle-associated fungs. Plant Physiol 109:821-827

Cottle W, Kolattukudy PE (1982) Biosynthesis, deposition, and partial characterization of potato suberin phenolics. Plant Physiol 69:393-399

Dixon RA, Paiva NL (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell 7:1085-1097

Dyer WE, Henstrand JM, Handa AK, Herrmann KM (1989) Wounding induces the first enzyme of the shikimate pathway in Solanaceae. Proc Natl Acad Sci USA 86:7370-7373

Eltard-Ivey M, Douglas CJ (1996) Role of jasmonates in the elicitor and wound-inducible expression of defense genes in parsley and transgenic tobacco. Plant Physiol 112:183-192

Gatehouse JA (2002) Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. New Phytol 156:145-169

Gorlach J, Raesecke HR, Rentsch D, Regenass M, Roy P, Zla M, Keel C, Boller T, Amrhein N, Schmid J (1995) Temporally distinct accumulation of transcripts encoding enzymes of the prechorismate pathway in elicitor-treated, cultured tomato cells. Proc Natl Acad Sci USA 92:3166-3170

Humphreys JM, Chapple C (2002) Rewriting the lignin road map. Current Opin Plant Biol 5:224-229

Korth KL, Dixon RA (1997) Evidence for chewing insect-specific molecular events distinct from general wound response in leaves. Plant Physiol 115:1299-1305

Leitner M, Boland W, Mithofer A (2005) Direct and indirect defenses induced by piercing-sucking and chewing herbivores in Medicago truncatula. New Phytol 167:597-606

Malmberg A (1984) N-Feruloylputrescine in infected potato tubers. Acta Chem Scand B 38:153-155

Negrel J, Pollet B, Lapierre C (1996) Ether-linked ferulic acid amides in natural and wound perioderms of potato tuber. Phytochemistry 43:1195-1199

Olson MM, Roseland CR (1991) Induction of the coumarins scopoletin and ayapin in sunflower by insect-feeding stress and effects of coumarins on the feeding of sunflower beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Environ Entomol 20:1166-1172

Pearce G, Marchand PA, Griswold J, Lewis NG, Ryan CA (1998) Accumulation of feruloyltyramine and p-coumaroyltyramine in tomato leaves in response to wounding. Phytochemistry 47(4):659-664

Qiuju Q, Xueyan S, Liang P, Xiwu G (2005) Induction of phenylalanine ammonia-lyase and lipoxygenase in cotton seedings by mechanical wounding and aphid infestation. Prog Nat Sci 15(5):419-423

Razal RA, Ellis S, Singh S, Lewis NG, Towers GHN (1996) Nitrogen recycling in phenylpropanoid metabolism. Phytochemistry 41:31—36

Richard S, lapointe G, Rutledge RG, Seguin A (2000) Induction of chalcone synthase expression in white spruce by wounding and jasmonate. Plant Cell Physiol 41(8):982-987

Santiago R, Butron A, Arnason JT, Reid LM, Souto XC (2005) Free phenols in maize pith and their relationship with resistance to Sesamia nonagrioides (Lepidoptera: Noctuidae) attack. J Econ Entomol 98(4):1349-1356

Strack D (1997) Phenolic metabolism. In: Dey PM, Harborne JB (eds) Plant biochemistry. Academic Press, New York, pp 387-416

Treutter D (2005) Significance of flavinoids in plant resistance and enhancement of their biosythesis. Plant Biol 7:581-591

Van Heerden PS, Towers GHN, Lewis NG (1996) Nitrogen metabolism in lignifying Pinus taeda cell cultures. J Biol Chem 271:12350-12355

Walling LL (2000) The myriad plant responses to herbivores. J Plant Growth Regul 19:195-216

Zangler AR (1990) Furanocoumarin induction in wild parsnip: evidence for an induced defense against herbivores. Ecology 71:1933-1940

ثالثاً : الدفاع بواسطة الكالويدز بيروليزيدين : الذى يتكون بواسطة النباتات ويطوع بواسطة الحشرات

Defense by Pyrrolizidine Alkaloids : Developed by Plants and Recruited by Insects

Thomas Hartmann and Dietrich Ober

الكالويدز البيروليزيدين تعبر عن مركبات ثانوية سامة فى النباتات مع حدوث متقطع فى عائلات البذور بعيدة الارتباط عن بعضها . النواحى الفسيولوجية والايكولوجية لدورها فى الدفاع ضد آكلات الأوراق نوقشت فى محافل كثيرة . فى أنواع Senecio يتم تخليق سينسيونين ن – أكسيد كتركيب أساسى هيكلى فى الجذور وتتوزع خلال اللحاء فى جميع النبات وتتنوع بواسطة تفاعلات طرفية تؤدى إلى إنتاج أنواع أو نظم أو بروفيلات من الالكالويدز الخاصة بالنوع . فيما عدا التنوع التركيبى فإن الالكالويدز لا تظهر أى تحول أو انهيار . الالكالويدز تتحرك مكانياً وتتكون ببطء وتتراكم عند مواقع هامة استراتيجياً من الناحية الدفاعية مثل العنقود الزهرى والأنسجة الخاصة بالبشرة . بناء على النشوء الجزيئى للإنزيم الخاص فى المسار الأول توفرت ادلة تشير إلى أن مسارات الكالويدز البيروليزيدين تنشأ باستقلالية فى مختلف كاسيات البذور . الكالويدز البيروليزيدين من الأمثلة التى درست جيداً فى نظام دفاع النبات الذى يطوع بواسطة الحشرات آكلة النباتات. العديد من الحشرات المختلفة المتكيفة تعزل الالكالويدز وتستغلها لحماية نفسها ضد المفترسات والمتطفلات . بعض حرشفيات الأجنحة المتكيفة Arctiids اختيرت كى تمثل التكامل الخاص لنظام الدفاع النباتى فى بيولوجى الحشرة . هذا التكامل يتضمن التميز الحسى والاستخدام الفعال لمصادر الالكالويدز النباتية وكذلك صيانة ووضع الالكالويدز فى حالة غير سامة وآمنة تمثيليا . هذا التكيف البيوكيميائى يؤكد الدور المميز للالكالويدز فى سلوك الحشرة كما فى حالات نقل الالكالويدز التى تضمن حماية البيض من الذكر للأنثى بواسطة تغطيته بمركبات الالكالويدز من كلا الأبوين .

١- مقدمة

الكالويدز البيرولزيدين (Pas) عبارة عن قسم من مركبات الدفاع التركيبية فـي النباتات ضد آكلات العشب (Hartmann and Oler , 2000) . السؤال المطروح فـي هذا المقام . لماذا نعنى بالدفاع التركيبى فى كتاب يتناول الـدفاعات النباتيـة المحفـزة ؟ الإجابة أن هناك أسباب جيدة لهذا التناول . فى البداية نقول أنه فى الدفاعات الكيميائية فإن الحد الفاصل بين الدفاعات التكوينية والمحفزة غير قاطع وحتى الالكالويدز مثل النيكوتين يعبر عنها تكوينياً عند مستوى معين والذى يكون تحت ضغط الإصابة بـآكلات النباتـات يعزز بواسطة التخليق المحفز . ثانياً فإنه مع مقارنة الدفاعات الجاريـة فـإن الـدفاعات المحفزة أقل تكلفة بسبب تكاليف التمثيل القليلة والسماح بتراكم المستويات العالية لمركبات الدفاع . الدفاعات التكوينية تعتبر أكثر قدماً وتقدم الأساس لنشوء الدفاعات الفعالة المحفزة تنظيمياً . بقاء آكلات النباتات الحشرية تعتمد على قدرته على التوافق مع وسائل النبـات المناهضة لآكلات العشب . بالنسبة لآكل العشب الذى يتحول لعائل نباتى جديد يكون مـن الأسهل عليه التكيف مع وسائل الدفاع السابقة عما هو الحال مع المحفزة . بعض آكـلات النباتات التى تكيفت بنجاح مع الدفاع النباتى التكوينى تتمكن من التكيف مع نظام الـدفاع النباتى لفائدتها . خلفيات التكيف بين الحشرة والنبات تقدم رؤى عن قدرات الحشرات على تكامل وسائل الدفاع النباتية فى بيولوجيتها .

T. Hartmann

Institute of Pharmaceutical Biology , Technical University of Braunschweig , D- 38106 Braunschweig , Germany .

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistance to Herbicory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008.

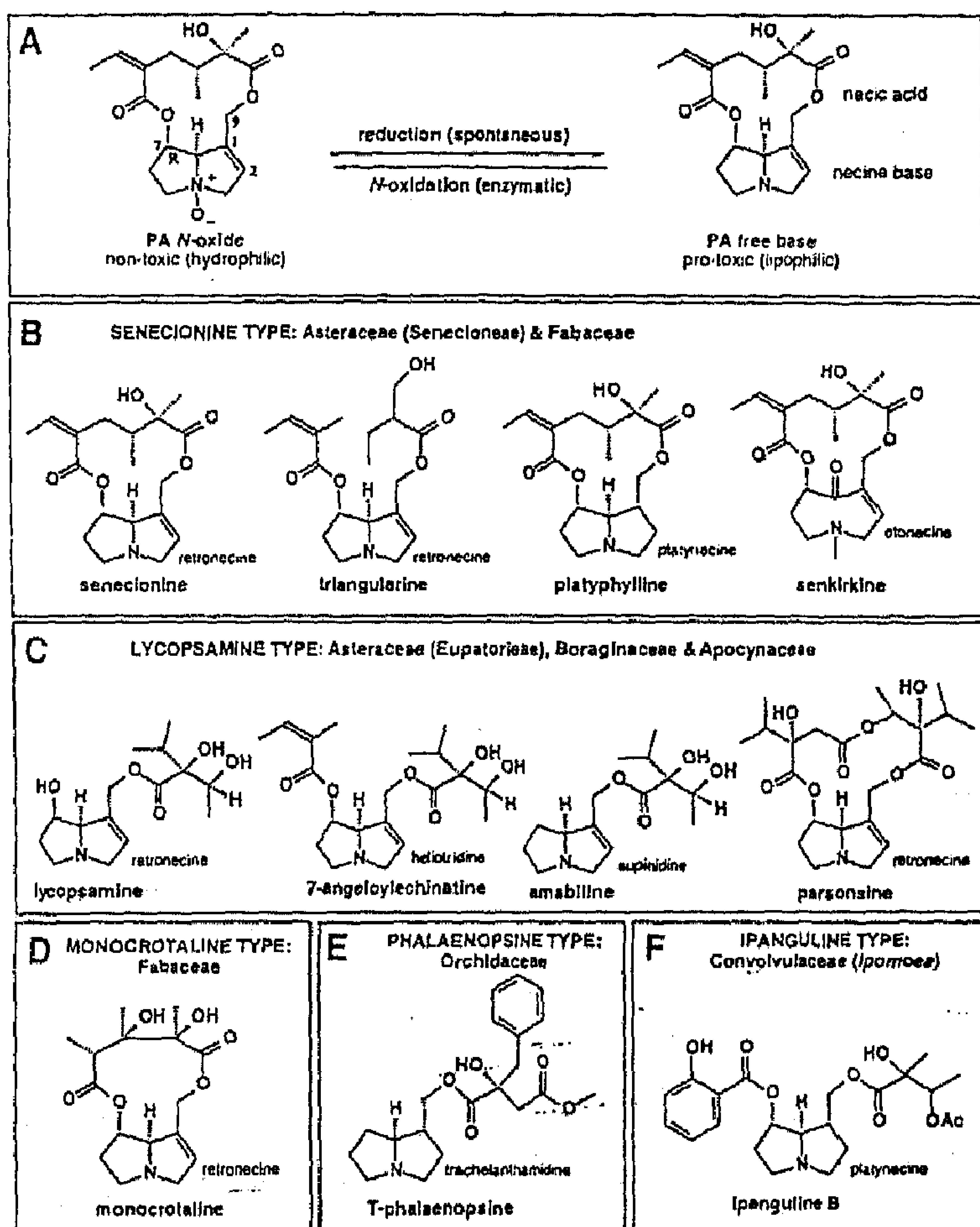
٢- الكالويدز بيروليزيدين النباتية

٢-١- أنواع الحدوث والتركيب

حدوث Pas مقيد على كاسيات البذور . لقد وجدت متقطعة وفى الغالب متوزعة فى عائلات بعيدة الارتباط . من المصادر المعروفة قبائـل Eupatorieae , Seneeioneae لعائلة Astaraceae والعديد من أجناس Boraginacene . فى عائلة Fabaceae توجد Pas فقط فى قبيلة Crotalariae حيث تحل محل الكالويدز الكوينوليزيدين (Wink and Mohamed , 2003) . فى داخل قبائل Apocynaceae , Orehidaceae معـروف

وجود أجناس قليلة تحتوى على PAs بينما فى قبيلة Convolvulaceae توجد PAs فقط فى قليل من الأنواع المرتبطة (Jenett-Sikmg et al., 2005) .

PA's تتميز بغنى فى التنوع فيما يقارب ٤٠٠ مركب . بالرغم من تنوعها إلا أنهـا تشترك فى خاصية واحدة شائعة فيما بينها ألا وهى أنها عبارة عن إستر الكالويدز يتكون من قاعدة نيسين تؤستر إلى واحد أو أكثر من أحماض نيسيك (شـكل ٦-٥) . جميـع قواعد الينسين مشتقات من كحول الأمينـو ثنـائى الحلقـات ، ١- هيدروكـسى ميثيـل بيروليزيدين . أحماض نيسيك تمثل أنواع من السلاسل الأليفاتية المعقدة وأحماض عطرية أقل وفرة . غالبية PA's المعروفة ترجع إلى النوع Senecionine (الـشكل ٦-٥ B) أو النـوع Lycopsamine (الـشكل ٦-٥ 1C) . الأول وجـد أساسـا فـى عائلـة Asteraceae والقبيلة Senecioneae والنوع الأخير يقع فى العائلات والقبائـل الثلاثـة Asteraceae وقبيلة Eupatorieae و Boraginaceae و Apocynaceae . PAs من النوع Senecionine تمثل مركبات ثنائية الاستر ذات الحلقية العملاقـة التقليديـة التـى تصاحب عرضياً الاسترات الثنائية ذات السلـسلة المفتوحـة المرتبطـة مثـل مركـب Triangularine (الشكل ٦-٥ 1B) . PAs من النوع Lycopsanine عبارة عـن استرات أحادية ذات سلسلة مفتوحة أو ثنائية الاسترات تحتوى على وحدة واحـدة علـى الأقل من ٢- أيزوبروميل – ٣,٢ – دايهيدروكسى بيـوتيرات ، حمـض necic – C7 المتميز والذى يحدث فى الطبيعة حصرياً فى PAs . فى عائلة Apocynaceae وجـدت PAs كاسترات ثلاثية ضخمة الحلقات مثل Parsonsine (الشكل ٦-٥ 1C) . فى كلا النوعين من PA's فإن الرترونيسين هو قاعدة الينسين السائدة ولكنهـا عرضـياً يحـدث أحلالا بواسطة نيسينات أخرى. من الصفات المميزة الأخرى لمركبات PA's أنها توجـد فى العائلات استرايسى ، بورا جينيسى والفابيسى كأكاسيد نتروجينية قطبية والتى بدورها يسهل اختزالها تلقائياً للشوارد الحرة المقابلة . استرات أوتوينسين فقط مثل Sinkirkine (الشكل ٦-٥ 1B) الذى لا يمكن أكسدته بـالنتروجين يوجـد كـشوارد حـرة . أنـواع Apocynaeae يبدو أنها تحتوى PA's على صـورة شـوارد حـرة فقـط . عـائلات Orchidaceae و Convolvulaceae تحتوى فقط على PA's مع شوارد ٢,١ – ينسين المشبعة (الشكل ٦-٥ 1E , F) . هذه PA's توجد إما على صورة شوارد حرة كما فى عائلة Convolvulaceae أو على صورة مخـاليط مـن الـشوارد الحـرة وأكاسـيدها النتروجينية كما فى الأوركيد (Frolich et al., 2006) .



شكل (٦-٥) : أنواع التركيب الكبرى لالكالويدز البيروليزيدين (PAs) التى تحدث طبيعياً فى النباتات . (A) فى العديد من النباتات توجد PAs على صورة آكاسيد نتروجينية قطبية غير سامة والتى يسهل اختزالها منتجة القاعدة الحرة ذات السمية الأولية . (B) النوع سينسيونين يمثل القسم الأكبر من البيروليزيدين عملاقة الحلقية . (C) النوع ليكوبسامين يمثل القسم الأكبر للاسترات الأحادية والداى استرات مفتوحة السلسلة . النوع مونوكروتالين يحدث فقط فى عائلة Fabaceac . F , E الفالينويسين وايبا بخلورالين تمثل ١ و ٢ PAs المشبعة.

٢-٢- السمية Toxicity

النباتات المحتوية على البيروليزيدين الكالويدز يحتمل أن تكون من أكثر النباتات الشائعة السامة التى تؤثر على الدواجن والماشية والحياة البرية والإنسان , Prakash et al., 1999 . Cheeke 1998 السمية المحفزة بواسطة PAs درست باستفاضة فى الفقاريات .. PAs مع ٢,١ – رابطة زوجية فقط فى النيسين لها شق مثل ريتونيسين

والهليوتريدين والسوينيدين والأوتونيسين (الشكل ٦-٥) ذات سمية كبيرة ولكنها تنشط تمثيلياً لإحداث السمية . توجد ثلاثة مسارات تمثيلية أساسية لتمثيل ٢,١ - PAs غير مشبعة فى الفقاريات (Fa et al., 2004 - الشكل ٦-٦) :

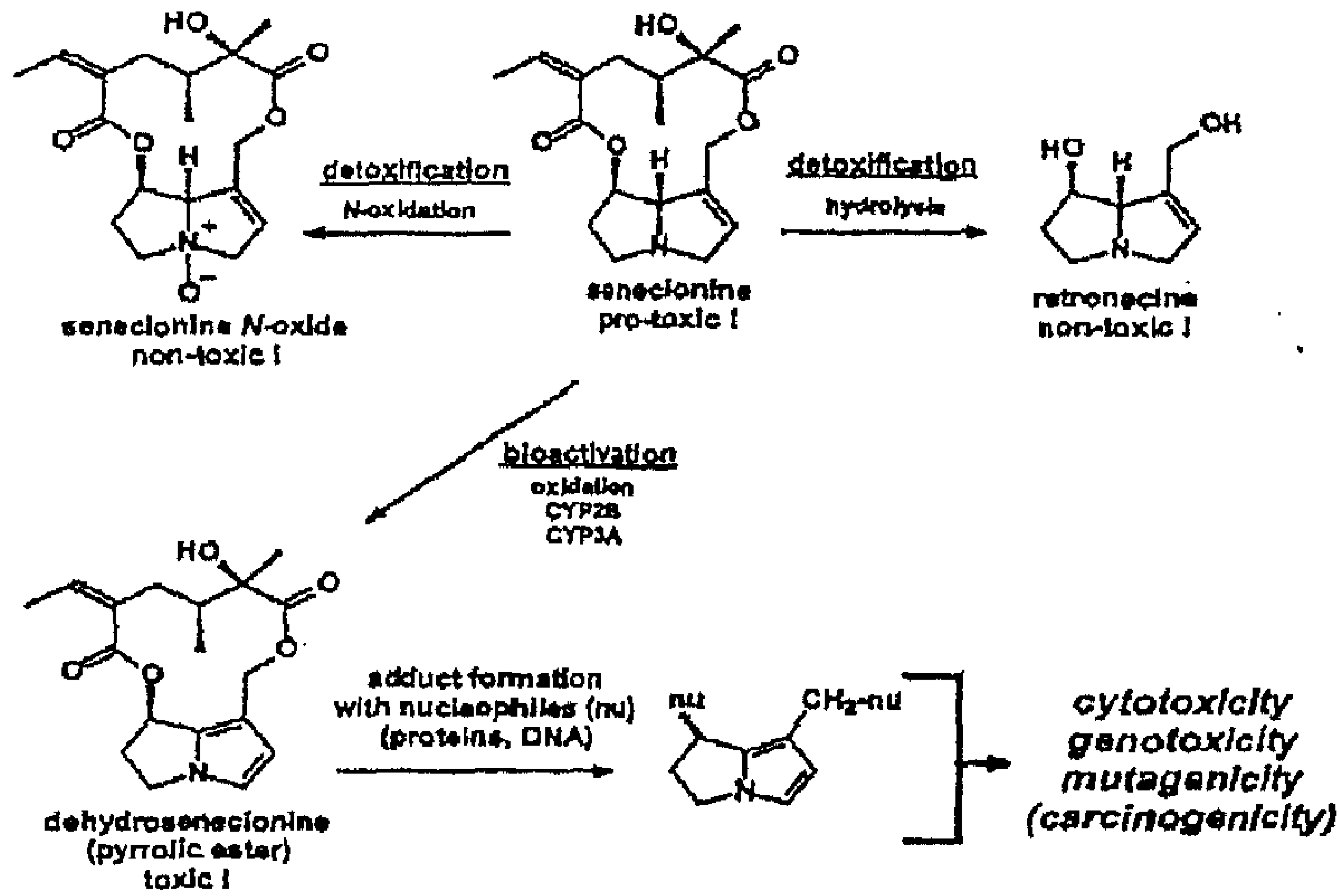
١- التحلل المائى لروابط الاستر منتجاً شارد النيسين الحر .

٢- الأكسدة النتروجينية للشارد الحر .

٣- أكسدة شارد النيسين إلى مشتق ديهيدروبيروليزيدن (استر بيروليك) والتحلل المائى والأكسدة -N تعتبر مسارات فقد السمية حيث أن تكوين ديهيدروبيروليزيدين يخلق وسائط نشطة تقوم وبسهولة بتكوين قنوات لمحبى النواة الحيوية مما يؤدى لحدوث سمية خلوية شديدة (الشكل ٦-٢) . فى الفقاريات فإن هذا التنشيط الحيوى يعال بواسطة المونواكسجينسيز سيتوكروم ٤٥٠ الكبدى وخاصة صور المشابهات , Cyp 28 (Huan et al., 1998 a) Cyp3A المونواكسجينسيز فلافين عديد الوسائط وبدرجة أقل إنزيمات P450 تشترك فى فقد السمية لمركبات PAs لأكاسيد النتروجين المقابلة .

فى الحشرات آكلات النباتات فإن التنشيط الحيوى لمركبات PAs بالمقارنة بما هو موجود فى الفقاريات وحيث أن الحشرات تملك مدى غنى من إنزيمات P450 التى تشترك فى تمثيل المواد الغريبة والسمية الحادة فى تطور يرقات Philosamia ricihi (Saturniidue , Narberhaus et al., 2005) .

العديد من النباتات تخزن أكاسيدها النتروجينية غير السامة . هذا ولو أن أى حيوان فقارى آكل النباتات أو حشرة تتغذى على هذه النباتات تمتص PAs كشارد حر سام أولياً فى خفض محتويات المعدة من أى أكسيد نتروجين تم تناوله وتحويله بسهولة إلى شارد حر مقابل . لذلك فإن آكل النبات غير المتكيف كلاهما يتكون كسم أولى . مركبات PAs تعانى من نقص ٢,١ - رابطة زوجية وليس لها ميل للتنشيط الحيوى (Fu et al., 2004) ومن ثم تعتبر غير سامة .



شكل (٦-٦) : فقد سمية الكالويدز البيروليزيدين ٢,١ – غير مشبع ذات السمية الأولية في الفقاريات وتحولها إلى وسائط البروليك السامة بواسطة التنشيط الحيوى المعال بالسيتوكروم – ٤٥٠ .

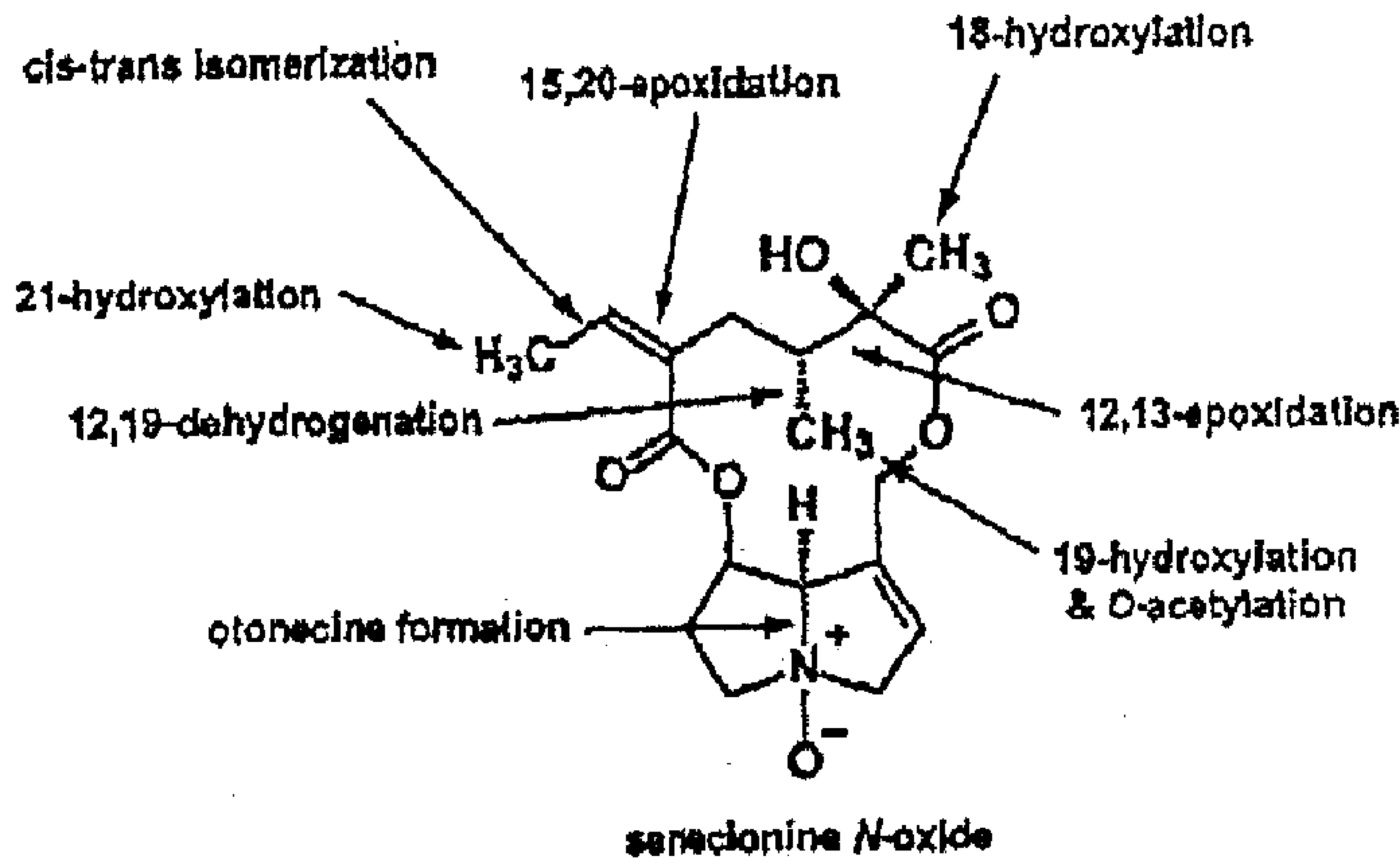
٢-٣- ملامح الدفاع الكيميائى التكوينى : النواحى الفسيولوجية

المتطلبات الأساسية للدفاع التكوينى بسيطة : مركب أو مركبات الدفاع يجب أن تتراكم بثبات فى الأنسجة المستهدفة بالتركيزات المطلوبة لمنع الضرر بواسطة أى مضاد مثل آكل النبات الحشرى . مركبات PAs تغطى هذه المتطلبات بوجه عام : تتراكم بكميات كافية كما أنها ثابتة تمثيلياً حيث أنها لا تظهر أى انهيار . هذا ولو أن PAs تتحرك مكانياً وتحمل من مواقع تخليقها إلى مواقع تراكمها حيث تتركز داخل التجاويف الخلوية (Ehmke et al., 1988) . هذه الخصائص التمثيلية عرفت فى أنواع Semecio التى تخلق سينيسيونين ن – أكسيد كهيكل تركيب لمركبات PA فى الجذور . سينيسيونين – ن – أكسيد تتوزع خلال اللحاء فى جميع أجزاء النبات وهى تتنوع كيميائياً لإنتاج أنماط PAs ذات التنوع الخاص . فى داخل الجذور فإن التخليق الحيوى لمركبات PA يكون مقيداً على خلايا خاصة كما هو موثق بواسطة وضع المناعة لإنزيم هوموسبيرميدين سينسيز وهو الإنزيم الفاتح فى التخليق الحيوى لمركبات PA . فى نباتات Senecio فإن هذه الخلايا تتضمن مجموعات من خلايا الاندودرم والخلايا المجاورة لبرانشيما القشرة تقع مباشرة معاكسة للحاء (Moll et al., 2002) . فى الأنواع الأخرى

التى تنتج PA فإن مواضع تخليق PA قد تكون مختلفة . فى نباتات Eupatorium فــإن التخليق الحيوى لمركبات PA يحدث فى جميع خلايا برانشيمة القشرة فى الجذور (Anke et al., 2004) بينما فى نباتات Phalaenopsis فإن تخليقه يكون مقيداً مع قمة الجــذور الهوائية . فى نباتات عائلة Boraginaceae فإن موضع التخليق قد يختلف من نوع لآخر كما فى : الجذور فقط (Symphytum officinale) والسيقان فقــط (Heliotropium indicum) أو فى السيقان والجذور (Cynoglossum officinale) . هذا يوضــح أن مركب الدفاع التكوينى ليس هو موقع التخليق فى كل حالة بحالتها ولكن موضع التــراكم هو المصب النهائى الأكثر أهمية .

على غرار المركبات الثانوية الأخرى فإن التنوع الكيميائى والتباين مــن الــصفات التقليدية لمركبات PA's . كل نوع يتميز ببروفيله الخاص لمركبــات PA وقــد لــوحظ تباينات كبيرة نوعية وكمية بين مجاميع العائلات النباتية . من الأمثلة التى درست جيــداً مجــاميع Senecio Jacobaea و Senecio erucifolius (Witte et al., 1992) . لقد درس التنوع التركيبى باستخدام خمسة أنواع من Senecio مع تباين بــروفيلات PA لها . جميع الأنواع تقوم بتخليق سينسيونين ن – أكسيد كتركيب هيكلــى حيــث تتنــوع بواسطة خطوة أو خطوتان فى التحويل (الشكل ٦-٧) . هذه التفاعلات تؤثر أساساً على شق حامض نيسيك وهــى تــشمل فقــد الايــدروجين Dehydrogenations وكــذلك الهيدروكسلة ذات المواقع المختلفــة المتخصــصة Hydroxylation والأكــسدة الفائقــة Cpoxidations والأستلة التأكــسدية O – acetylations هــذه التفــاعلات الطرفيــة Peripheral reactions تتقدم ببطء وفى الغالب تختلف فى الفاعلية بين أعضاء النبات . لذلك فإن بروفيل PA لأى نبات يكون نتيجة للتوازن الحركى لعدد من العمليات المتداخلة مثل معدل الإمداد والتزويد لمركب سينيسيونين ن – أكسيد الجديدة المخلقــة وتخصــصية وكفاءة التحولات وسرعة الترسيب وفى النهاية التخزين فى النسيج أو الخلايا الخاصــة . أى تغير وراثى يؤثر على كفاءة واحد من التفاعلات الطرفية سوف يحور بــشكل كبيــر بروفيل PA دون أن يؤثر على كميته الشاملة . الكمية الكلية لمركبات PA النباتية تحــدد حصرياً بواسطة مدى التكوين الخاص لمركب سينيسيونين – ن – أكسيد . هذا الــسيناريو للميكانيكية يشرح التباين الكبير لبروفيلات PA بين المجاميع ثــم تعــضيده مــن خــلال دراسات أخرى . التحليل الوراثى لنبات S.jacobaea توضح أن التباين الفينولوجى الكبير المجاميع فى كلا المحتوى الكلى لمركبات PA وبروفيلات P النوعية لأربعة وعــشرون نوعاً من نبات Senecio من القسم Jacobaea بناء على أقصى شح كلادوجرام ينشأ من تتابع الحمض النووى DNA وبيانات الشكل الظــاهرى (Pelur et al., 2005) فإنــه يؤدى إلى التوزيع العرضى لستة وعشرون من PAs المرتبطة مــن الناحيــة الحيويــة الوراثية داخل الكساء الكلى . الاختلافات فى بروفيلات PA لا تفسر عن طريق اكتــساب

أو فقد الجينات الخاصة خلال النشوء ولكن من خلال غلق وفتح التعبير الجينى الانتقالى . من الواضح أن الأنواع قادرة على نظم اللخبطة العشوائية للسينيسيونين والمشتقات من المجموع الوراثى للكساء ومن ثم يخلق بروفيلات PA ذات تنوع مختلف ومتباين .



شكل (٦-٧) : تنوع سينيسيونين – ن – أكسيد بواسطة تفاعلات طرفية ذات خطوة واحدة أو خطوتان منتجة بروفيلات مختلفة من أنواع خاصة فى أنواع نباتات Senecio .

٢-٤- ملامح نظام الدفاع التكوينى : النواحى الإيكولوجية

كما هو الحال مع معظم التوكسينات النباتية فإن مركبات PAs ذات طعم لاذع للإنسان كما أنها طاردة أو مانعة قوية للتغذية للفقاريات واللا فقاريات (Boppre , 1986). هذا ولو أن وجود دليل مباشر عن وظيفتها الدفاعية فى النباتات مازال غير موجود أو نادر الوجود . على عكس الدفاع المحفز حيث أن السبب (الهجوم) والتأثير (تكوين مركب دفاعى) فى منتهى الوضوح فإنه يمكن الحكم على الدفاع التكوينى فقط بواسطة غياب أو وجود آكلات النباتات المؤثرة . لذلك فإن الدليل الذى يعضد وظيفة PAs فى دفاع النبات يكون فى الغالب غير مباشر . من أحد خطوط الدليل غير المباشر هو التراكم فى نسيج خاص لمركبات PAs . فى الغالب تظهر الأزهار أعلى تركيزات من PA كما أتضح مع نباتات Senecio وكذلك هيليوتروبيوم وفالينوبسيس (Orchidaceae) . فى عينات الأزهار كانت كميات PAs المرتبطة بتكوين العناقيد الزهرية تصل إلى ٥٠ – ٩٠% من الكمية الكلية لمركبات PAs مما يوضح حماية فعالة لمعظم أعضاء التكاثر النباتية . فى أوراق الورد C.officinale وجد أن الأوراق الأصغر تحتوى حتى ١٩٠ مرة أعلى من مستويات PA عن الأوراق العجوزة . الحشرات العامة آكلات الأوراق تتغذى فقط الأوراق القديمة الفقيرة فى محتوى PA بينما آكلات الأوراق الخاصة

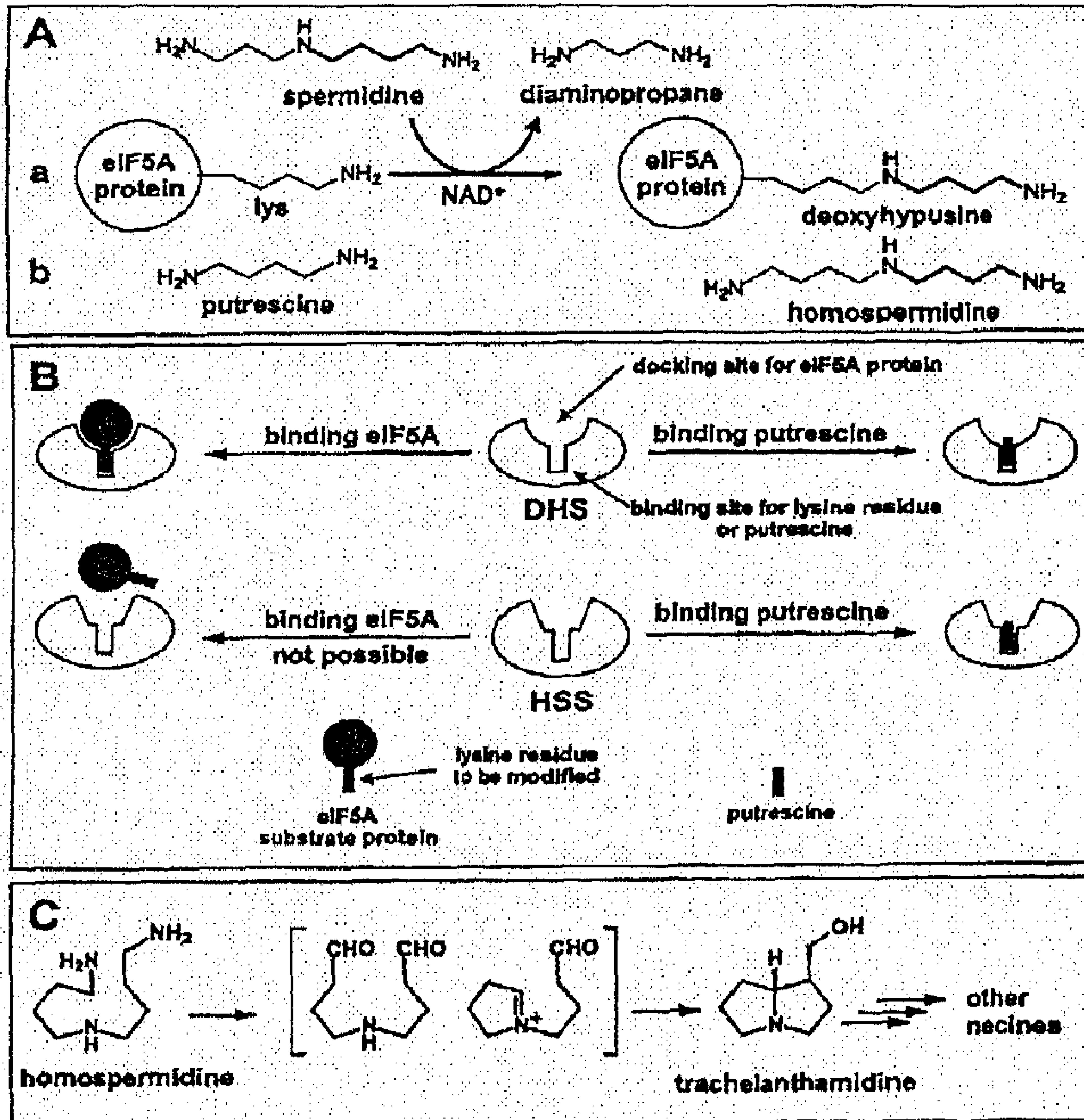
تكيفت مع PA حيث تفضل الأوراق الصغيرة الغنية بالبروشسين (Van Dam et al ., 1995a) . فى السوق الخضراء للأنواع العشبية مثل Senecio فإن مركبات PAs تتراكم بشكل أفضل فى طبقات الخلايا الطرفية وهى توجد حتى فى كميات ضئيلة على سطح الورقة . مرة أخرى فإن الأنسجة الصغيرة ذات القيمة الوظائفية وكذلك كما فى الأنسجة الطرفية التى تقدم التلامس الأول لآكل النبات تكون مجمعة جيداً . هناك خط آخر من الدليل غير المباشر يوضح دور لفاعلى لمركبات PA ألا وهو التنوع الكيميائى والتباين الكبير فى بروفيل PA. تأثير مركبات PAs النقية على خمسة آكلات أعشاب عامة حشرة أظهرت أن PAs المرتبطة تركيبياً تختلف فى تأثيراتها الطاردة وكذلك يمكن أن تعمل تنشيطياً إذا استخدمت فى مخاليط (Macel et al., 2005) هذه النتيجة أخذت كموضوع للمناقشة لتوضيح أهمية آكلات العشب العامة على نشوء وصيانة تنوع PA . لقد تحصل على دليل آخر من ملاحظة أن التوزيع الجغرافى لبعض الأنواع الكيميائية للنوع S. jacobaea أظهر بوضوح أنها لا ترتبط بالأسلاف الشائعة ولكن ترجع إلى تشابه الضغط الانتخابى مثل آكلات الأعشاب فى بعض المناطق .

٢-٥- النشوء الجزيئى لمسارات PA فى كاسيات البذور

جميع مركبات PAs تتشارك فى هيكل الكربون فى ٢- هيدروكسى ميثيل بيروليريدين فى شق قاعدة الينسين (الشكل ٦-١) . لقد أجريت دراسات قليلة ودقيقة فى نهاية السبعينات والثمانينيات وعرفت المركب بولى أمين هوموسبيرميدين كبادىء للتخليق الحيوى لشق قاعدة الينسين (Spencer 1985 , Robins ,1989) تكوين الهوموسبيريميدين يحفز بواسطة إنزيم هوموسبيريميدين سينسيز (EC 2.51. HSS) والذى تم عزله بداية وتوصيفه من مزارع جذور Senecio . لقد تم تنقية الإنزيم وكلونة والتعبير عنه فى بكتريا إيشيريشيا كولاى . هذا الإنزيم يشفر بواسطة جين الذى نشأ فى الأصل بواسطة التضاعف الجينى والتنوع المتتابع من جين الأسلاف لإنزيم ديوكسى هيبوسين سينسيز (EC 2.5.1.16 , DHS) DHs يحفز الخطوتان الأوليتان فى النشاط ما بعد النسخ لعامل (eIF5A) 5A فى حقيقية النواة . DHS عبارة عن إنزيم عالى التحفظ يوجد فى جميع حقيقيات النواة و Archaea . فى عملية تنشيط eIF5A فإنه يحفز نقل الشق أمينوبيوتيل للاسبيرميدين إلى بقايا الليسين للبادىء البروتينى eIFA (الشكل ٦-A٨) . كتفاعل جانبى فإن DHS يكون قادراً على تحفيز تكوين هوموسبيريميدين من بوتريسين (الشكل ٦-A٨) ومن ثم التفاعل الرئيسى الدقيق للإنزيم HSS . مقارنة الخصائص الإنزيمية والجزيئية للإنزيمين أظهرت أن HSS تحتفظ بجميع خصائص DHS فيما عدا القدرة على ربط البروتين البادىء eIF5A (الشكل ٦-٨ B). نشوء HSS مثال حصرى للنشوء بواسطة تغير الوظيفة : تضاعف الجين (DNS)

وظيفياً تتضمن فى عملية تنشيط البروتين المنظم التى تعاد وتتكامل على صورة HSS فى البيئة الوظيفية الكاملة وظيفياً مثل التخليق الحيوى لمركبات الدفاع منخفضة الجزيئية (الشكل ٦-١ C – Ober 2005) .

السلفية المؤكدة لإنزيم HSS من DHS الذى يحدث بشكل محدود يقدم الفرصة لبروز السؤال عما إذا ما كانت مسارات PA داخل كاسيات البذور من أصول وحيدة أو متعددة الأعراف Polyphyletic . تحليل أزواج تتابعات cDNA التى تشفر , DHS HSS من مختلف أنواع كاسيات البذور أظهرت على الأقل أربعة حوادث تضاعف مستقلة للجين الذى يشفر DHS مما يؤدى فى كل حالة إلى جين جديد يشفر HSS (الشكل ٦-٥). هذه التضاعفات تحدث مبكراً فى نشوء وحيدة الفلقات و Boragineceae على التوالى وحتى مرتان داخل عائلة Asteraceae (واحدة داخل , Eupaturieae Senecioneae على التوالى) . حوادث التضاعف الإضافية تماثل ما يحدث فى العائلات ذات الأنواع التى تنتج PA والتى لم تراعى فى هذه الدراسة . هذه البيانات توضح أن الحدوث المتفرق لمركبات PAs داخل كاسيات البذور تكون نتيجة للنشوء المتحول . هذه الملاحظة واضحة ومميزة ضد الخلفية التى تنادى بأن تراكيب PA الناتجة تكون فى الغالب متطابقة . PAS من النوع ليكوبسامين كمثال يحدث داخل القبيلة (Asteraceae)



Eupatorieae وداخل العـائلات Apocynaceae , Boroginaceae . بـالرغم مـن الأصل المستقل لإنزيم HSS داخل هذه العائلات فإن PAs تشارك عـدد مـن ملامـح التراكيب المتطابقة (الشكل ٦-٥) مثل ريترونيسين . إنزيمات التخليق الحيوى الإضافية لمركبات PA سوف تحلل لمعرفة الانطباع كيف أن المسار الشامل يدور فـى كاسـيات البذور المستقلة.

شكل (٦-٨) : أصل إنزيم هوموسبيريميدين سينسيز (HSS) بواسطة تضاعف الجين الذى يشفر أوكسى هيبوسين سينسيز (DHS) . (A) : DHS يحفز بيوتيلية الأمينو لبقايا الليسين الخاصـة للبادىء eIF5A البروتينى (a) وكتفاعل جانبى تحول البيوتريسين إلى هوموسـبيريميدين (b) . HSS : B هو DHS الذى فقد القدرة على ربط البروتين البادىء eIFSA . تفاعله وحركياته مع البيوتريسين يبقى بدون تغير . (C) : HSS معروف فقط مـن النباتـات التى تحتوى PA ويعاد ويتكامل فى التخليق الحيوى PA ويحفز تكوين هوموسـبيريميدين وهو هيكل الكربون المتميز كقواعد النيسين .

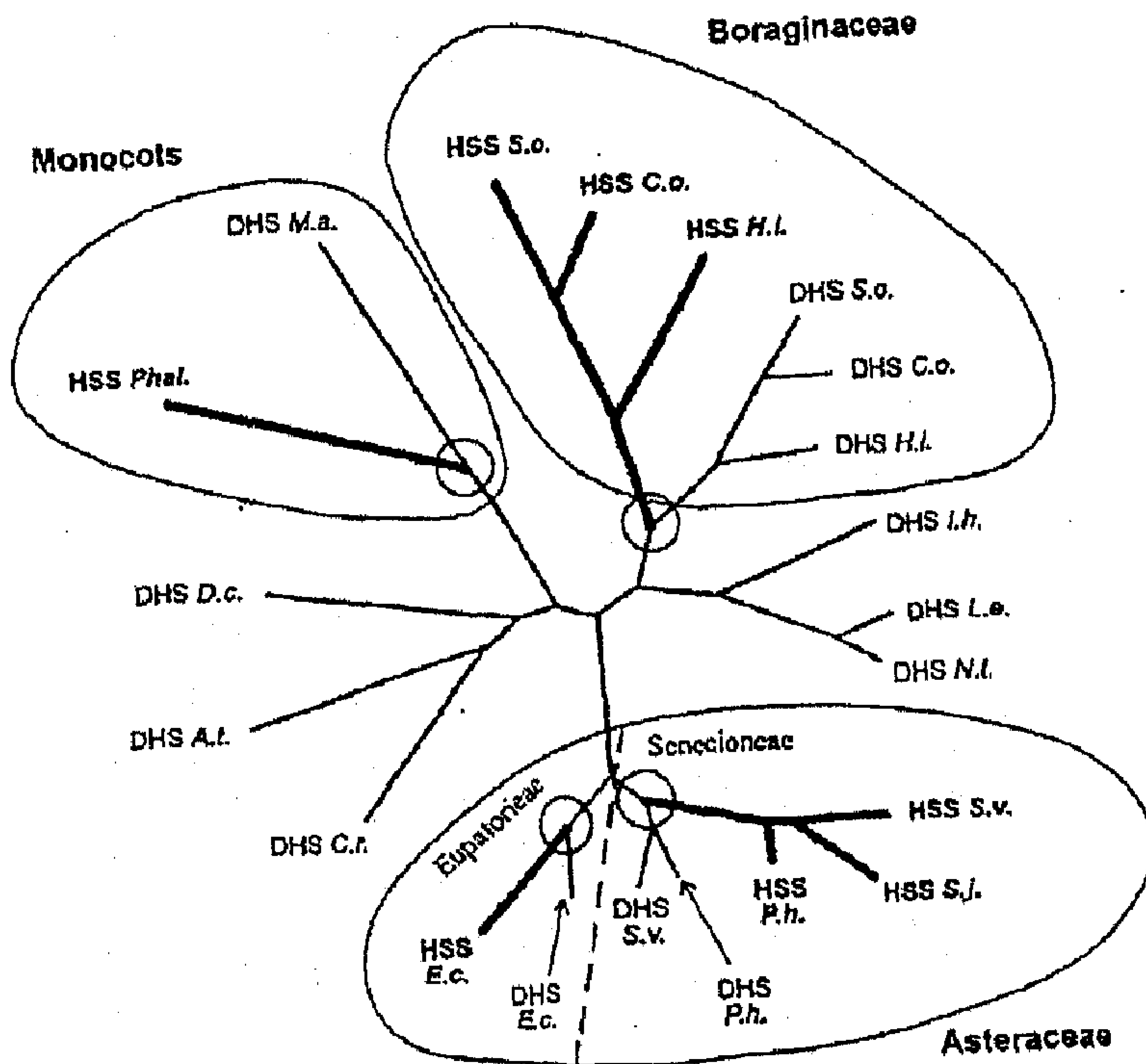
٣- استخدام الكالويدز البيروليزيدين المشتقة من النباتات بواسطة الحشرات

٣-١- حدوث وتوزيع PA المعزول بين الحشرات

منذ ما يقرب من ٤٠ عامـاً مـضت أوضـحت الباحثـة Miriam Rothsehild ومعاونيها أن يرقات فراشة النيابار الأوربية (Tyria jacobaeae (Arctiidae تفـصل PAs من عوائلها النباتية S.jacobaea وتصلح أو تصون الالكالويدز خلال جميع أطوار الحياة . فى الحقب الزمنية التالية عرفت أمثلة عديدة عن قيام آكلات النباتـات الحـشرية بعزل PA . لقد وجد شيوع عزل PA فى عائلة فراشة النمر من عائلة Arctiidae . لقد عرف حوالى ٧٠ نوع تعزل PA's مع غذاء يرقاتها مثـل T.jacobarae أو الحـصول على الالكالويدز فى الطور البالغ من الحشرة من الأجزاء الميتة أو الذابلة من النباتات التى تحتوى على PA . فى الحالة الأخيرة فإن الفراشات تتقيأ على سطح النبات وعندئذ تعيـد شرب السائل المحتوى على الالكالويدز الذائبة . هذا السلوك الذى يستخدم فيه النبات فقـط كمصدر للدواء Drug source يطلق عليه ملتهم الصيدلانيات Pharmacophagy . هذه الظاهرة شائعة بين أبى دقيقات التى تفصل PA بما فيها إلى دقيقـات التـى تـستخلص Ithomine nymphalid , danaine . العمل الرائد على عزل مركبات PA أجرى فى استراليا والبرازيل .

من الأمثلة الأخرى عن عزل PA تلك التى وجدت فى أنواع الخنافس التى تـصيب الأوراق من رتبة غمدية الأجنحة والمعروف عنها تنوع كبير لكيميائيات الدفاع الداخلية . بعض الخنافس تملك العديد من الغدد خارجية الإفراز Exocrine والتى منها يتم إفـراز العديد من قطرات المواد الدفاعية عندما تهاجمها الخنافس . خنافس الأوراق تقوم بوجـه

عام بتخليق مركبات الدفاع الخاصة بها ولكن فى بعض الحالات تستخدم وتطوع الدفاعات النباتية . أنواع الجنس Palaearctic تتغذى على النباتات التى تحتوى على مركبات PA مثل Adenostyles alliariae (Asteraceae) حيث تفصل وتعزل PA من عوائلها النباتية وتركزها حتى 1- 0.3moil فى إفرازاتها الدفاعية . نفس التكيف حدث استقلاليا فى أنواع الجنس الاستوائى Platyphora التى تتغذى على الأنواع التى تحتوى على PAS للنوع ليكوبسامين . هناك أمثلة إضافية من غمدية الأجنحة التى تعزل PAs النباتية مثل الخنافس البرغوثية من الجنس Iongitarsas التى تتغذى على الأنواع المحتوية على PA من عائلات Asteraceae و Boraginaceae والخنفساء البرازيلة C. Falax (Canth aridae) التى تتغذى على العناقيد الزهرية لنبات Senecio داخل رتبة مستقيمة الأجنحة ثم وصف نوع واحد فقط يعزل PA وهو النطاط متعدد العوائل Z. variegates . فى رتبة نصفية الأجنحة وجدت الأنواع التى تعزل PA فى ثلاثة قبائل غير مرتبطة ببعضها مثل البق L. rufipennis التى تمتص من سيقان نباتات Senecio واثنان يتغذيان على اللحاء مثل المنّ A.jacobaea والحشرة القشرية المكسيكية .



شكل (٦-٩) : شجرة الوراثة النوعية لإنزيمات HSS , DHS التى تشفر تتابعات CDNA لمختلف أنواع كاسيات البذور . تفرعات HSS التى تشفر التتابعات موضحة فى حروف كبيرة حيث تنشأ فى كل حالة عند حدوث التضاعف لإنزيم DHS الذى يشفر الجين (معلم بالدوائر) . الشكل محور من Reimann et al., 2004 . اختصارات الأنواع التالية :

Species abbreviations : A.t., Arabidopsis thaliana ; C.o., Cynoglossum officinde ; C.r., Crotalaria retusa ; D.c., Dianthus caryophyllus ; E.c., Eupatorium connabinum ; H.i., Heliotropium indicum ; I.h., Ipomoea hederifolia ; L.e., Lycopersicon esculentum ; M.a., Musa acuminate ; N.t., Nicotiana tabacum ; P.h., Petasites hybridus ; Phal , Phalaenopsis spe ; S.j., Senecio jacobaea ; S.v., Senecio vernalis ; Symphytum officinale .

جميع الأمثلة المعروفة عن عزل PA يتم تناولها بشكل مستقل موضحاً فائدة كبيرة لطلبات PA للحشرات . فى معظم الحالات وجد أن عزل PA يكون مصحوباً بتكيف بيوكيميائى خاص . خنافس الورق كمثال تملك تكيفات مختلفة خاصة لمنع تراكم تركيزات ضارة من PAs كشوادر حرة ذات سمية أولية فى الأنسجة النشطة تمثيلياً . هذه الحشرات تملك أكثر حوامل الأغشية الأكثر نشاطاً التى تحفز انتقال PAs فى الغدد الدفاعية وتركزها فى افرازاتها الدفاعية .

٣-٢- عزل مركبات PA فى فراشات Arctiid

٣-٢-١- النواحى السلوكية والكيميائية الايكولوجية : قصة Utetheisa ornatrix

دور PAs المشتقة من النباتات فى أداء الحشرة تم معرفته بشكل كامل فى حشرة U.ornatrix (Eisner et al., 2002) . يرقات هذه الفراشات تحصل على مركبات PAs الخاصة بها من نباتات Crotalaria spp وتحتفظ بالألكالويدز خلال التطور . عند التزاوج فإن الذكر يعلن عن مركبات PA الخاصة به ويحملها للأنثى خلال هورمون الغزل للذكور والمحتوى على PA المسمى هيدروكسى دانيدال . ينبعث الفورمون من زوج من فرش الرائحة فى الذكر (Coremata) والذى يخرج الذكر خلال التداخلات المسبقة والقريبة من تلقيح الأنثى . الإناث عندها القدرة على قياس تركيز الفورمون وتميز بين الذكور التى تحتوى على كميات غير متساوية من الفورمون وتوافق على الجماع مع الذكور التى تحتوى على مستويات عالية (Conner et al., 1995) . خلال عملية التلقيح يقوم الذكر بنقل جزء من مركبات PAs إلى الأنثى هذه الالكالويدز تنتقل جنباً إلى جنب مع حمل الأنثى من البيض خلال التبويض (Dussourd et al., 1988) .

مركبات الالكالويدز PAs تحمى الحشرات الكاملة من الافتراس بواسطة العناكب . منح مركبات PA يحمى كذلك البيض وكذلك الأطوار الأخيرة من حياة الحشرة ضد الافتراس بواسطة خنافس أبى العيد والنمل ويرقات الرعاشات وكذلك الافتراس بواسطة الدبابير أشباه الطفيليات مثل ترايكوجراما أوسترينيا .

٣-٢-٢- النواحى الفسيولوجية والبيوكيميائية

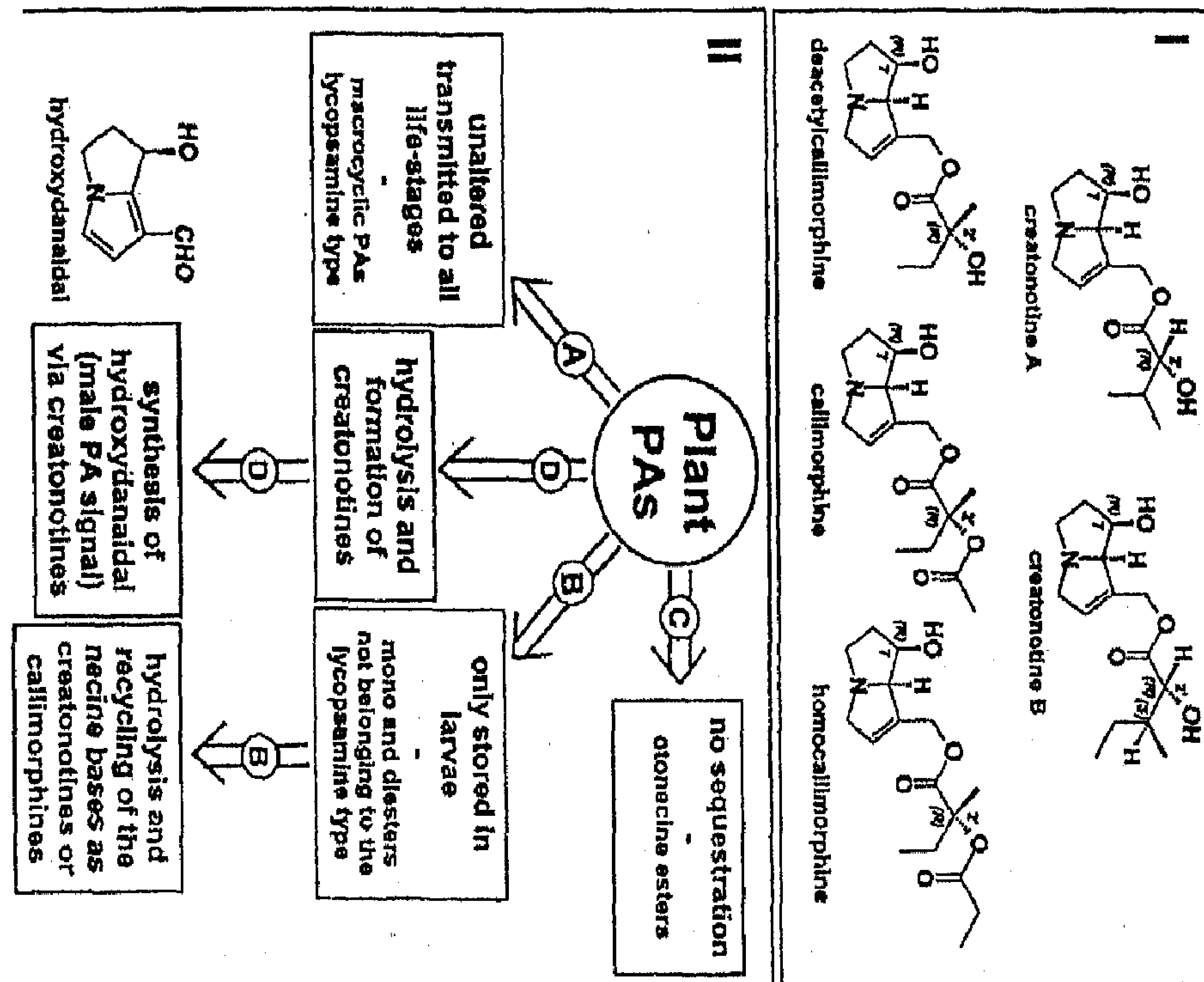
Arctiids التى تعزل PAs من عوائلها النباتية يجب أن تكتسب قدرتان جديدتان على الأقل : فهى فى حاجة لتمييز PAs كما يجب أن يكون قادرة على منع تسممها . من المعروف أن PAs عبارة عن منشطات للتغذية للحشرات أركتيد التى تكيفت على مركبات PA وحديثا أتضح أن يرقات الأركتيد تملك خلايا عصبية حسية مفردة فى أجزاء فمها تستجيب بوجه خاص وبحساسية (الحد الحرج للاستجابة أقل من ١٠-٩ مول) لجميع الأنواع التركيبية الكبرى من PAs (الشكل ٦-١) وليس مع الالكالويدز الأخرى (Bernays et al., 2002 a,b) . الاركتيد تمتص PAs كشوارد حرة أولية السمية حيث أن اى ن – أكسيد يتم تناوله مع الطعام يختزل فى المعدة . القواعد الحرة الممتصة تتحول فى الحال إلى PA N- oxide المقابلة غير السامة . هذه الأكسدة -N تحفز بواسطة إنزيم المونواكسجينيز المعتمد على الفلافين (Senecionine N- oxygenase , EC 1.14.13.101) تستقر على صورة إنزيم ذائب فى الهيموليمف . الإنزيم يحول تخصصيا أى شارد حر سام أولى إلى ن – أكاسيد غير سامة . متطلبات هذا العمل فى أركتيد السلف يبدو أنه مطلب مسبق لفصل أو عزل PA . التمييز الحسى وفقد السمية المتخصص يسمح للاركتيد وحيد العائل المتكيف مثل U.ornatrix و T.jacobaeae لإدراك وصيانة PAs من عوائلها النباتية . هذا ولو أن الأنواع متعددة العوائل مثل E.ocrea أو G.geneura والتى تم تسجيل ما يزيد عن ٦٥ نوع نباتى عائل فى حاجة إلى تكيفات إضافية . كلا النوعين يستغل من النباتات المحتوية على PA مثل Senecio أو Crotaluria فى البيئة الطبيعية مثل أراضى الرعى فى أريزونا كما هو الحال " مصدر الأدوية " . حيث أنها لا تستطيع العيش والبقاء على النباتات التى تحتوى على مركبات PA كمصدر غذاء وحيد فإن التغذية على نباتات بها PA تسبب فقد مرحلى فى استجابة الأجسام العصبية الحساسة لمركبات PA مما يسمح للديدان بترك مصدر الالكالويد الخاص بها وتبحث عن غذاء أفضل جودة . هذا الميكانيكية تسمح للديدان بإيجاد اتزان بين تناول المغذيات وأدوية الدفاع. بالإضافة إلى ذلك فإن الاستجابة لتنشيط الالتهام لجميع أنواع PA تتطلب مقدرة الديدان الأكولة على التوافق مع أى مصدر PA نباتى يحدث طبيعيا . يوجد على الأقل ثلاثة طرق عن كيفية تداول مركبات PA (الشكل ٦-٦):

١- مركبات PAs كبيرة الحلقية و PA من النوع ليكوبسامين (الشكل ٦-١) تعزل وتصان دون تغير خلال جميع أطوار الحياة (الشكل ٦-٦ IIA) .

٢- PAs التى لا يمكن فقد سميتها بواسطة الأكسدة -N مثل مشتقات الأوتونيسين (مثل سينكيركين – الشكل ٦-١٠) تستبعد من الفصل (الشكل ٦-٦ IIC) .

٣- PAs التى تفصل بواسطة اليرقات ولكنها تحتاج لأسترة انتقالية قبل الانتقال لأطوار حياة متتابعة (الشكل ٦-٦ IIB) . الحالة الأخيرة تتضمن فى الأساس الاسترات الأحادية لمركبات PA والمركبات ثنائية الاسترات ذات السلسلة المفتوحة التى لا تنتمى للنوع ليكوبسامين .

هذه الأنواع من PA تتحلل مائياً فى اليرقات وقواعد الينسين الناتجة يعاد أسترتها مع أحماض الينسين ذات الأصل الحشرى . لقد لوحظت بشكل متكرر استرات ريترونيسين الخاصة بالأركتيد مثل كاليمورفين والكرياتونوتين . هذه المركبات تمثل قسمان من PAs المتخصصة للأركتيد هما الكاليمورفينات والكرياتونوتينات (الشكل ٦-٦) . الأركتيدات ذات مقدرة لإعادة أسترة جميع أنواع قواعد الينسين المشتقة من PAs النباتية ومن ثم تكون قادرة على تعويض قواعد الينسين وصيانتها كاسترات من صنع الحشرات خلال جميع أطوار الحياة . هذه الصورة من التمثيل المدهشة تسمح للأركتيدات عديدة العوائل باستغلال معظم أنواع PAs التى تحدث طبيعياً فى النباتات بشكل فعال .



شكل (٦-١٠) : مركبات Callimorphiness , Creatonotines قسمان من البيروليزيـدين الكالويـدز الخاصة للاركتيد مصنوعة من قاعدة نيسين من الأصل النباتى وأحماض نيسيك التى تزود بواسطة الحشرات . (II) يرقات أركتيد عديدة العوائل قادرة على التواكـب مـع جميـع التراكيب لمركبات PAs النباتية . اعتماداً على التركيب فإن PAs قد تـستخدم أى مـن ٢٩٤٠ – المركبات غير المتغيرة (المسار A) أو تتحلل مائيا وقواعد الينسين تعـوض على صورة كرياتونوتينات أو كالومورفينات (المسار B) أو تستبعد من العزل مثل استر الأولونيسين (المسار C) . الأنواع التى تنتج فورمون الغـزل فـى الـذكور خاصـة هيدروكسى داناداى وتخلق إشارة PA هذه خلال كرياتونوتينات كوسيط شائع (المسار D)

Reference

Aplin RT, Benn MH, Rothschild M (1968) Poisonos alkaloids in the body tissues of the cinnabar moh (Callimorpha jacobaeae L.). Nature 219:747-748

Bernays EA, Edgar JA, Rothschild M (1977) Pyrrolizidine alkaloids sequestered and stored by the aposematic grasshopper, Zonocerus variegatus. J Zool 182:85-87

Boppre M (1984) Redefining pharamcophagy. J Chem Ecol 10:1151-1154

Bottcher F, Ober D, Hartmann T (1994) Biosynthesis of pyrrolizidine alkaloids: putrescine and spermidine are essential substrates of enzymatic homospermidine formation. Can J Chem 72:80-85

Cheeke PR (ed) (1998) Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants. Interstate, Danville

Dobler S, Happer W. Witte L. Hartmann T (2000) Selective sequestration of pyrrolizidine alkaloids from diverse host plants by Longitarsus flea beetles. J Chem Ecol 26:1281-1298

Edgar JA (1982) Pyrrolizidine alkaloids sequestered by Salomon Island Danainae butterflies. The feeding preferences of the Danainae and Ithomiinae. J Zool 196:385-399

Eisner T, Eisner M, Rossini C, Iyengar VK, Roach BL, Benedikt E, Meinwald J (2000) Chemical defense against predation in an insect egg. Proc Natl Acad Sci USA 97:1634-1639

Fu PP, Xia Q, Lin G, Chou MW (2004) Pyrrolizidine alkaloids – genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms. Drug Metab Rev 36:1-55

Gonzalez A, Rossini C, Eisner M, Eisner T (1999) Sexually transmitted chemical defense in a moth (Utetheisa ornatrix). Proc Natl Acad Sci USA 96:5570-5574

Haberer W, Dobler S (1999) Quantitative anaylsis of pyrrolizidine alkaloids sequestered from diverse host plants in Longitarsus flea beetles (Coleoptera, Chrysomelidae). Chemmecology 9:169-179

Hartmann T (1999) Chemical ecology of pyrrolizidine alkaloids. Planta 207:483-495

Huan JY, Miranda CL, Buhler DR, Cheeke PR (1998a) The roles of CYP3A and CYP2B isoforms in hepatic bioacivation and detoxification of the

pyrrolizidine alkaolid senecionine in sheep and hamsters. Toxical Appl Pharmacol 151:229-235

Jenett-Siems K, Schimming T, Kaloga M, Eich E, Siems K, Gupta MP, Witte L, Hartmann T (1998) Pyrrolizidine alkaloids of Ipomoea hederifolia and related species. Phytochemistry 47:1551-1560

Klitzke CF, Trigo JR (2000) New records of pyrrolizidine alkaloid-feeding insects. Hemiptera and Coleptera on Senecio brasiliensis. Biochem Syst Ecol 28:313-318

Lindigkeit R, Biller A, Buch M, Schiebel HM, Boppre M, Hartmann T (1997) The two faces of pyrrolizidine alkaloids: the role of the tertiary amine and its N-oxide in chemical defense of insects with acquired plant alkaloid. Eur J Biochem 245:626-636

Mattocks AR (ed) (1986) Chemistry and toxicology of pyrrolizidine alkaloids. Academic Press, London.

Moll S, Anke S, Kahmann U, Hansch R, Hartmann T, Ober D (2002) Cell specific expression of homospermidine synthase, the entry enzyme of the pyrrolizidine alkaloids in Senecio vernalis in comparsion to its ancestor deoxyhypusine synthase. Plant Physiol 130:47-57

Narberhaus I, Zintgraf V, Dobler S (2005) Pyrrolizidine alkaloids on three trophic levels – evidience for toxic and deterrent effects on phytophages and predators. Chemoecology 15:121-125

Ober D, Hartmann T (2000) Phylogenetic origin of a secondry pathway: the case of pyrrolizidine alkaloids. Plant Mol Biol 44:445-450

Prakash AS, Pereira TN, Reilly PEB, Seawright AA (1999) Pyrrolizidine alkaloids in human diet. Mutat Res 443:53-67

Reimann A, Nurhayati N, Backenkohler A, Ober D (2004) Repeated evolution of the pyrrolizidine olkaloid-mediated defense system in separate angiosperm lineages. Plant Cell 16:2772-2784

Singer MS, Carriere Y, Theuring C, Hartmann T (2004a) Disentandeling food equality from resistance against parasitoids: diet choice by a generalist caterpillar. Am Nat 164:424-429

Stegelmeier BL, Edgar JA, Colegate SM, Gardner DR, Schoch TK, Coulombe RA, Molyneux RJ (1999) Pyrrolizidine olkaloid plants, metabolism and toxicity. J Nat Tox 8:95-116

Trigo JR, Brown KS, Henriques SA, Barata LES (1996) Qualitative patterns of pyrrolizidine alkaloids in ithomiinae butterflies. Biochem Syst Ecol 24:181-188

Van Dam NM, Witte L, Theuring C, Hartmann T (1995b) Disribution, biosynthesis and turnover of pyrrolizidine alkaloids in Cynoglossum officinale. Phytochemistry 39:287-299

Von Brostel K, Witte L, Hartmann T (1989) Pyrrolizidine alkaloid patterns in populations of Senecio vulgaris, Senecio vernalis and their hybrids. Phytochemistry 28:1635-1638

Vrieling K, Derridji S (2003) Pyrrolizidine alkaloids in and on the leaf surface of Senecio jacobaea L. phytochemistry 64:1223-1228

Williams DE, Reed RL, Kedzierski B, Dannan GA, Guengerich FP, Buhler DR (1989a) Bioactivation and detoxication of the pyrrolizidine alkaloid senecionine by cytochrome P-450 enzymes in rat liver. Drug Metab Dispos 17:387-392

Witte L, Ernst L, Adam H, Hartmann T (1992) Chemotypes of two pyrrolizidine alkaloid containing Senecio spp. Phytochemistry 31:559-566

الباب السابع

دور الإنزيمات مضادات التغذية والبروتينات وإنزيمات المعدة فى تحقيق الدفاع ضد الآفات التى تهاجم النباتات

أولاً : مثبطات إنزيم البروتييز النباتى : النشوء الوظيفى للدفاع

Plant Protease Inhibitors : Functional Evolution for Defense

Maarten A. Jongsma and Jules Beekwilder

فى هذا المقام سوف نستعرض الطرق التى تلجأ إليها النباتات والمفترسات النباتية لخلق الحلول فى معركة الحصول على الأحماض الأمينية الضرورية النادرة . سوف نوضح أنه فى كلا الجانبين النبات والحشرة تشترك العديد من عائلات الجينات المختلفة للمثبطات والبروتييزيس مع نظم تعبير خاصة ومحددة بين الأفراد المختلفة . هذا الوسائل تقدم بصمة وراثية للنشوء والايكولوجى لدورها الوظيفى . سوف نشير إلى بعض الفرضيات والتى تعضد بعض الأدلة تحت ظروف خاصة فيما يتعلق بالنشوء الوظيفى . النظرة الأولى تشير إلى أن التداخلات بين النبات – الحشرة / الممرض ما هى إلا صدام بن اثنين من الجزيئات البروتينية . هذا ولو أنه بسبب الطبيعة العرضية للنشوء فإن هذه المعركة قد تأخذ العديد من المظاهر الجديدة . تيسر جينومات الفصل الكاملة على مستوى كلا النبات والحشرة والوسائل الممتازة للجينات الخاصة المسئولة عن فرط التعبير تقدم ما هو مطلوب بالضبط للسماح باكتشافات جديدة فى هذا المجال .

١- مقدمة

البحوث فى مجال مثبطات البروتييز النباتى (PIs) ترجع لأكثر من ٦٠ عاماً بداية من انتهاء الحرب العالمية الثانية عندما قام البحاث Bowman (1946) , Kunitz (1946) وكذلك Birk et al., 1963 لأول مرة بتنقية وتوصيف مثبطات البروتييز فى نباتات فول الصويا . بعدئذ وفى الحقب الزمنية التالية تم إضافية عائلات جديدة من الجينات للعدد الابتدائى لدرجة أننا على معرفة فى الوقت الحالى بثلاثة عشر من العائلات الجينية المختلفة لمثبطات البروتييز وهى التى تتضمن وتحكم عمل جميع العائلات الرئيسية للبروتييزيس . والتى تستهدف فى الغالب تثبيط بروتييزيس آكلات النباتات أو مسببات الأمراض النباتية .

M.A. Jongsma

Plant Research International B.V., Wageningen University and Research Center , 6700 AA Wageningen , The Netherlands .

e-mail : marten.jongsma@wur.nl

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistane to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008 .

التأثيرات المضادة للتغذية لمثبطات البروتيينيز فى تغذية الحيوان والإنسان عرفت منذ زمن بعيد ولكن دورها فى الدفاع النباتى أصبح مؤكداً عندما اكتشف الباحثان Green and Ryan (1972) أن أوراق النبات كذلك تحفز مستويات عالية من مثبطات البروتييز فى استجابة خاصة للتلف الميكانيكى والذى يحدث بواسطة الحشرات . اكتشاف التحورات الوراثية سمح بالتعبير الفائق لمثبطات البروتييز والتى قدمت بعد ذلك وتباعاً الدليل الأول فى المملكة النباتية عن دور مثبطات البروتييز فى حماية النباتات ضد الحشرات (Abdeen et al ., 2005) . الطفرات الطبيعية لمثبطات التربسين فى نباتات الدخان البرية قدمت الدليل الحقيقى الأول بأن المثبطات تحدث مستوى معين من السيطرة أو المكافحة حتى ضد آفاتها الطبيعية (Zavala et al., 2004) .

بالرغم من الارتفاع الرهيب فى مستويات مثبطات البروتييز فى الدفاع النباتى ضد الحشرات آكلات النباتات فإن التأثير على موت أو تطور آكلى النباتات يكون فى الغالب ضئيل أو يكون غائباً . هذا ولو أن التأثيرات الصغيرة على التطور قد تكون وثيقة الصلة بالنواحى الايكولوجية وتؤثر على الجيل الثانى مع خفض شديد فى التكاثر . هذا ولو أن الملاحظة بأن بعض الحشرات تراوغ تأثيرات المثبطات بواسطة الاستجابة مع تحفز البروتيزيس غير الحساسة لمركبات PI مما يخلق الحذر بأنه توجد معركة بين المثبط وجزيئات البروتييز وفى نظام مرحلى (Jongsma et al., 1995) . لقد أتضح بعد ذلك أن البروتيزيس فيها طفرات مكتسبة تجعلها فراغياً غير حساسة للمثبطات (Bown et al., 1997) . الحشرات الأخرى كانت شديدة الفاعلية فى هدم المثبطات مع بروثييزيس خاصة. لكن وبالرغم من هذه الرؤية فإننا نعتقد بأننا أحرزنا بعض التقدم ولو قليل فى اقتفاء أثر الألغاز التى تلعبها اقتراب الحيلة والخداع Trick and Deceit والتى تدور حول هذا النوع من صور الدفاعات النباتية .

فى هذا المقام سوف نتناول وصف كيف يمكن فهم هذه التداخلات الآن وفى المستقبل. بالرغم أن هذا كان من ضمن الأبحاث القديمة ولكن النتائج المتدنية يمكن أن تفعل وتعظم فى الأهمية إذا تم بحث الموضوع فى النطاق الايكولوجى والفسيولوجى

والسيتولوجى وفى النهاية من النواحى الجزيئية فيما يتعلق ما يحدث مع المفترسات ومسببات الأمراض النباتية.

٢- ترتيب عائلات الجينات مع تنوع الأدوار

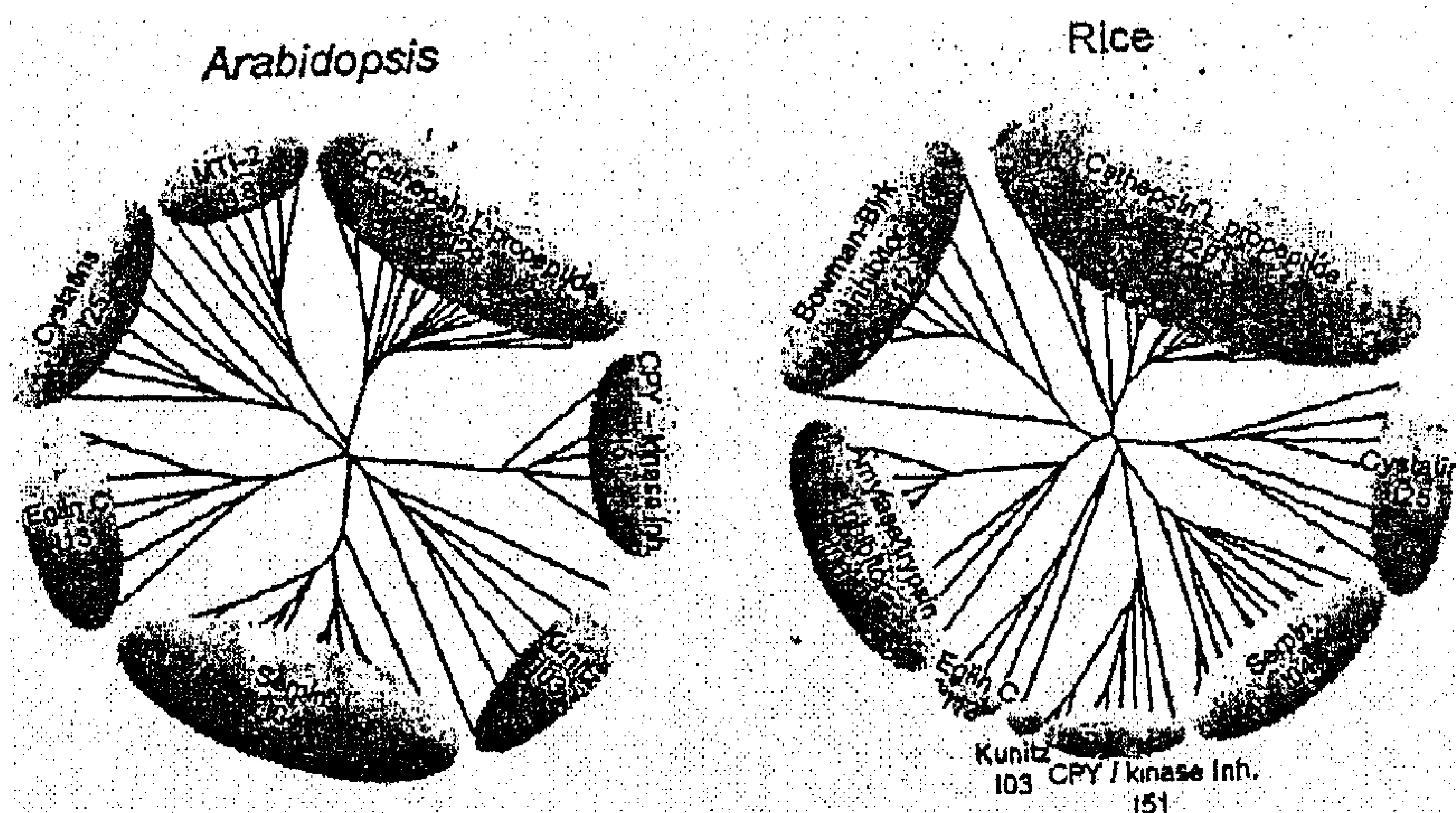
٢-١- جينومات نباتات الأرابيدوبسيس والأرز

لحد بعيد فإن المصدر الغنى بالجينومات النباتية كاملة الفصل أو العزل لم يستغل بشكل كامل بالنظر للمجالات الخاصة بمثبطات البروتييز . لغرض هذا الاستعراض تم حصر أو جرد المجموعة الوراثية الكاملة لمثبطات البروتييز لنوعين من النباتات : الجينومات التى تم التعليق عليها بشكل كامل لنباتات Arabidopsis thaliana والأرز Oryza sativa . الأرابيدوبسيس نبات ثنائى الفلقات بينما الأرز وحيد الفلقة وهذين النباتين بعيدى الارتباط مع بعضهما فى المملكة النباتية . من الأمور المناسبة أن قاعدة المعلومات MEROPS تستنطق هذه الجينومات لوجود سلاسل متجانسة متتابعة لمثبطات البروتييز المعروفة .

عبر جميع الكائنات الحية فإن المثبطات فى قاعدة المعلومات MEROPS تم تقسيمها فى ٦٨ عائلة يشار إليها 102 , 101 وهكذا . ثلاثة عشر من هذه العائلات توجد فى النباتات . فى أنواع نباتية خاصة مثل الأرابيدوبسيس فإن الجينوم يحتوى على ٨١ جينات مثبطة مزعومة تمثل سبعة من هذه العائلات (الشكل ٧ – ١ – 1A) بينما جينوم الأرز يحتوى ١٢١ من جينات مثبطة مزعومة تمثل ثمانية عائلات مثبطة (الشكل ٧ – 1B) . يوجد تداخل محسوس بين عائلات المثبط التى توجد فى كل النباتين . ستة عائلات 103 (مثبطات من النوع Kunitz) ، 104 (sprpins) و (Eglin C-homologues) 113 و 125 (Cystatins) و 129 (Cathepsin prodomnins) و 151 (Cpy-inhibtor homologues) تحدث فى كل النباتين . قد يعتبر البعض أن هذه العائلات مثبطات عامة نباتية كتلك التى تحدث فى معظم الأنواع النباتية .

بالإضافة إلى عائلات مثبط البروتييز العامة فإن العديد من العائلات النباتية تملك مثبطات توجد بتميز فقط فى بعض مجاميع النباتات . فى الأرز توجد فى أفراد من ١٠٦ عائلة (مثبطات تربسين / ألفا – أميليز) ، وهى تقليدية فى وحيدة الفلقة ، ١١٣ عائلة (مثبطات Bowman – Birk inhibitors) وهى تحدث كذلك فى البقوليات والبطاطس وعباد الشمس ولا تحدث فى نباتات أرابيدوبسيس . من جهة أخرى فإن الأرابيدوبسيس تعبر عن أفراد من ١١٨ عائلة (سلسلة مثبط تربسين الخردل) وهو حصرى متميز فى عائلة الصليبيات Cruciferae . يوجد كثير من مثبطات البروتييز متخصصة للنوع .

كمثال فإن أنواع العائلة الباذنجانية فقط معروف عنها أنها تلك مثبطـات العائلـة 120 (مثبط 2 فى البطاطس) ، 137 (مثبط ميتالوكربوكسى ببتيديز فى البطاطس) والعائلـة القرعية فيها العائلة 107 (مثبطات الكوسة) ، بينما العائلة 167 (بروماسـين) يوجـد بشكل حصرى فى الأناناس .



شكل (٧-١) : شجرة الوراثة النباتية بناء على تتابعات البروتين الناضج لجميع مثبطـات البروتييز لنباتى أرابيدوبسيس والأرز فى قاعـدة المعلومـات MEROPS (Rawlings et al. 2006) .

منظور الشكل (٧-١) يبنى على بيانات تتابع فقط ويميل إلى تضخيم العـدد الفعلـى للمثبطات المشفرة . ليس كل تتابع لوحظ وسجل يعتبر حقيقى لتشفير مثبط بروتييز فعال . كمثال فإن سلسلة مثبط Cyp 151 ترتبط بمثبط كربوكسى ببتيديز ٢ فى الخميرة وكـذلك مع تجمع مثبطات الكينيز المعروفة . لحد بعيد فإن نشاط مثبط البروتييز لم يظهر فى أى من البروتينات النباتية هذه . فى هذا المقام نشير إلى العائلة الأكبر من المثبطات فى كـلا النباتين وهو Cathepsin – prodomains 129 . 129s يمكن أن يحدث إما على صورة مثبطات حرة أو على صورة Prodomain للكاثبسين . فى جميع أنواع الأرابيدوبـسيس ومعظم أنواع الأرز الأعضاء 129 فإن نموذج المثبط فى البروتين يتبع بواسطة كاثيسين السائد . مما يوضح أن هذه البروتينات تعمل كميدان اولى لمنع التنـشيط غيـر الناضـج للكاثبسين . فى الأرز تتكون مجموعة صغيرة من أربعة تتابعات (موضحة فى الشكل ٧ – 1B) بواسطة أفراد 129 والتى لا تكون جزء من تتابع الكاثبسين ومـن ثـم تعمـل كمثبطات للبروثيزيس الأخرى بالرغم من هذه الوظيفة لم تقيم بعد .

معظم المثبطات فى الأرز والأرابيدوبسيس تستهدف سيرين بروتيزيس مثل التربسينات والكيموتربسينات والتى بحقيقة أن العديد من آكلات النباتات مثل حشرات حرشفية الأجنحة وكذلك الثدييات تستخدم هذه البروتيزيس لهضم البروتين . العائلة 125 فقط (Cystatins) تستهدف سيستين بروتيزيس بينما العائلة 103 ، مثبطات Kunitz تتضمن أفراد متخصصة لبروتيزيس السيستين والأسبارتيك .

٢-٢- الأدوار فى الدفاع وكذلك فى المجالات الأخرى

لقد تأكدت العلاقة المباشرة للدفاع ضد مفصليات الأرجل والنيماتودا و / أو البكتريا مع معظم عائلات المثبط مثل 112 (Bowman – Birk) و 103 (Kunitz) و 106 (تربسين / الف – أميليز) و 125 (سيستاتينات) و 113 (Eglin) و 118 (مثبط تربسين الخردل) . لقد وجد استثناء فى عائلة سيرين (104) . لقد أتضح أنها تملك نشاط مثبط فى النباتات ولكن دورها الوظيفى مازال غير واضح . السربينات ترافق البروتينات المخزنة فى بذور وحيدة الفلقات حيث تحميها من التحلل البروتينى Proteolysis أو تظل تعمل فى الدفاع . فى نباتات الأرابيدوبسيس فإنه لا يوجد أى من أفراده يحفز بواسطة الجسمونات أو المعاملة بالساليسيلات ومستوى التعبير تكون شديدة الانخفاض بوجه عام . لقد لوحظ أنه عندما يحدث تعبير فائق لسيسكينات نبات البطاطس والتى لها دور دفاعى معروف فى الطماطم فإن ذلك يؤدى إلى تقزم وفقد اليخضور Chlorosis فى نباتات الطماطم بينما لم تلاحظ هذه التأثيرات عندما استهدفت المثبطات مسار الإفراز . هذا يوضح أن هذه البروتينات ليست خاملة بالنسبة لفسيولوجية النبات العائل وقد تلعب أدواراً هامة ثانوية فى سلاسل من العمليات غير مرتبطة بالدفاع وتعتمد على الوضع تحت الخلوى للمثبط .

لقد أصبح التركيب الدقيق لجينوم DNA الكامل لنبات أرابيدوبسيس ولسنوات عديدة مما أدى إلى توفر مصدر غنى لبيانات التعبير لكل جين فى الأنسجة المختلفة تحت الظروف الفسيولوجية والإجهادات المختلفة . بدون أى تجارب معملية رطبة فإن هذه البيانات يمكن أن تظل فى الذاكرة وتستخدم لوضع فرضيات عن وظائف الأفراد فى عائلات الجين . كمثال تم عمل هذا التدريب على عائلة جين 2 – MII فى القرعيات مع ستة من الجينات والتى سبق دراستها كذلك بواسطة Clauss and Mitchell – olds (2004) . الجدول (٧-١) يلخص البيانات المتاحة فى الوقت الراهن عن التعبير الجينى للجين المتخصص فى نسيج نبات الأرابيدوبسيس . من الأمور المميزة رؤية أن الوظيفة الواضحة والوفيرة لهذه الجينات (وهى تشفر مثبطات التربسين) على الأقل جزيئاً وهذا يفسر من خلال حقيقة أن أنسجتها تختلف بشكل خاص وعريض فيما بين الجذور كمثال (أساسا At 2943535) والأوراق (أساسا At 2943550 و At 2943530) أو البذور (أساسا At 2943520 , At 1947540) بالإضافة إلى ذلك فإنها تنظم بشكل

مختلف كثيراً تحت الإجهادات المختلفة والظروف الفسيولوجية . من الواضح أن At 2943530 و At 2943550 و At 2943550 فقط هى التى تستجيب للجسمونات بينما At 2943510 يستجيب بشكل خاص للعدوى الميكروبية بواسطة بسيدوموناس سيرنجيا .

جدول (٧-١) : التعبير التكوينى المتخصص فى الأنسجة بدون محفز الأعضاء الستة جميعاً لعائلة جين 2 – MTI فى الأرابيدوبسيس . متوسط إشارات التزهير لهذه الأنسجة موضحة فى الجدول

Anatomy	Acc. nr.	At2g43510	At2g43520	At2g43530	At2g43535	At1g47540	At2g43550
	Potential inducer	*P.syringae* senescene		jasmonate wounding	darkness		Jasmonate
		ATTI1	ATTI2	ATTI3	ATTI4	ATTI7	ATTI6
	#of Chips	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
0 callus	**6**	**5604**	**190**	**440**	**2030**	**133**	**39**
1 cell suspension	**87**	**5766**	**255**	**307**	**5771**	**70**	**298**
2 seeding	**493**	**1832**	**697**	**2123**	**5944**	**91**	**1879**
21 cotyledons	9	763	618	3879	1127	42	4049
22 hypocotyl	6	453	413	6104	3540	82	3552

تابع جدول (٧-١) : التعبير التكوينى المتخصص فى الأنسجة بدون محفز الأعضاء الستة جميعا لعائلة جين 2 – MTI فى الأرابيدوبسيس . متوسط إشارات التزهير لهذه الأنسجة موضحة فى الجدول .

Anatomy	Acc. nr.	At2g43510	At2g43520	At2g43530	At2g43535	At1g47540	At2g43550
	Potential inducer	*P.syringae* senescene		jasmonate wounding	darkness		Jasmonate
		ATTI1	ATTI2	ATTI3	ATTI4	ATTI7	ATTI6
	#of Chips	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
23 radicle	9	121	173	357	7690	84	672
3 inflorescence	**232**	**1939**	**3428**	**4203**	**827**	**6685**	**210**
31 flower	85	2058	925	5116	513	62	3842
311 carpel	15	1314	563	7154	827	47	3844
311 1 ovary	4	1613	376	5021	479	49	3334
311 2 stigma	3	2363	148	2340	170	69	1868
312	6	991	75	1566	156	50	4727

petal							
313 sepal	6	13766	337	2229	236	47	2098
314 stamen	15	575	154	1056	191	101	1253
314 1 pollen	2	452	86	59	396	157	12
315 pedicel	3	489	652	2716	752	69	3546
32 silique	19	1542	2004	4746	738	9370	1089
33 seed	53	2661	9864	801	1624	25735	176
34 stem	28	1212	533	3827	489	56	1961

تابع جدول (٧-١) : التعبير التكوينى المتخصص فى الأنسجة بدون محفز الأعضاء الستة جميعا لعائلة جين MTI – 2 فى الأرابيدوبسيس . متوسط إشارات التزهير لهذه الأنسجة موضحة فى الجدول .

Anatomy	Acc. nr.	At2g43510	At2g43520	At2g43530	At2g43535	At1g47540	At2g43550
	Potential inducer	*P.syringae* senescene		jasmonate wounding	darkness		Jasmonate
		ATTI1.	ATTI2	ATTI3	ATTI4	ATTI7	ATTI6
	#of Chips	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
35 node	3	260	536	4362	454	39	4957
36 shoot apex	25	1858	2680	7164	807	41	3873
37 cauline leaf	3	1636	178	2129	193	38	392
4 rosette	**710**	**3473**	**1499**	**6035**	**925**	**55**	**4228**
41 juvenile leaf	87	2036	782	3846	722	69	2377
42 adult leaf	243	6346	2449	8560	1007	69	5533
43 petiole	12	559	467	4303	548	27	3986
44 senescent leaf	3	3454	102	995	79	49	131
45 hypocotyl	12	2703	3858	3470	2097	83	415
451 xylem	3	3441	4618	1676	587	71	116
452 cork	3	812	225	1249	383	90	571

5 roots	**236**	**1967**	**109**	**229**	**4793**	**72**	**408**
52 lateral root	4	611	303	1300	7892	101	548

تابع جدول (٧-١) : التعبير التكويني المتخصص في الأنسجة بدون محفز الأعضاء الستة جميعا لعائلة جين MTI – 2 في الأرابيدوبسيس . متوسط إشارات التزهير لهذه الأنسجة موضحة في الجدول .

Anatomy	Acc. nr.	At2g43510	At2g43520	At2g43530	At2g43535	At1g47540	At2g43550
	Potential inducer	*P.syringae* senescene		jasmonate wounding	darkness		Jasmonate
		ATTI1	ATTI2	ATTI3	ATTI4	ATTI7	ATTI6
	#of Chips	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean	Mean
53 root tip	4	148	162	281	2351	147	89
54 elongation zone	7	190	116	131	4685	129	157
55 root hair zone	4	296	114	126	1008	92	112
56 endodermis	3	483	127	187	1037	170	49
57 endodermis + cortex	3	155	108	300	974	104	306
58 epid atrichoblasts	3	498	156	326	9012	136	88
59 lateral root cap	3	838	162	594	1579	131	174
60 stele	3	244	173	163	1576	190	94

Inducer refers to circumstances which activate the gene on top of the developmentally regulated expression in different tissues provided in the table. Results were obtained from the Gene Atlas of Genevestigator (Zimmermann et al. 2004) at http:/www.genevestigator.ethz.ch/. Most data possessed standard errors of 5%-20% of the mean. ATTI numbers refer to Clauss and Mitchell-Olds (2004).

٣- العلاقة بين التركيب والفاعلية

٣-١- التخصصية للبروتييزيس : النماذج المختلفة

كما ذكر قبلاً فإن النباتات تشرك أقسام مختلفة من الجزيئات لتثبيط أنواع مختلفة من البروتيزيس وفي الغالب تحدث خارج نظامها الخاص كجزء من معدة آكل النبات أو السائل الميكروبي خارج الخلايا . الأقسام المختلفة للمثبطات تحفز بواسطة تركيب هيكلها من البولي ببتيدات . ميكانيكية التثبيط ولو أنها تكون هي نفسها مع جميع الأقسام وتتضمن تداخل بقايا المثبط مع الموقع الفعال للبروتييز المستهدف في نظام قويم (مثل الوسيط) خلال دائرة الموقع النشط المعرض (Bode and Huber 2000) . بالنسبة لمثبطات

سيرين بروتيينيز فإن معظم المخلفات التى تتداخل مع البروتينيز تقع على دائـرة فرديـة والتى تكون فيها بقايا P1 مركزية . بقايا P1 لوسائط البروتييز هى واحدة علـى جانـب الأمين للرابطة المتحللة مائياً وفى الغالب تكون محـدودة لتمييـز الوسـيط . المتبقيـات المحيطة (P2 , P3 ... الخ) ونهايات النتروجينية و P1 , P2 ... الـخ عنـد نهايـات الكربون) تلعب أدواراً ثانوية فى تداخل البروتيزيس ووسائطها . فـى كـلا المثبطـات والوسائط فإن بقايا P1 ثبت فى توافق وإحكام فى ارتباط الوسيط S للبروتييـز . علـى عكس وسائط الببتيد العادية فإن بقايا المثبط حول P1 تتداخل مع الإنزيم خلال التداخلات القطبية المكملة والكارهة للماء وتمسك فى موضع بواسطة روابط قوية مع مسرح المثبط. هذا يمنع التفرق الفورى للمعقد والذى يحافظ على الإنزيم غير نشط .

بقايا P1 فى العادة تمثل المحدد الأولى لتخصصية المثـبط . فـى حالـة مثبطـات التربسين فإن بقايا P1 فى العادة تكون مشحونة موجباً (Arg or Lys) ولكن فى حالـة مثبطات الكيموتربسين فإن P1 تكون كارهـة للمـاء (Phe أو Trp – Ile – Leu) . الأهمية النسبية لبقايا P1 تختلف بين المثبطات . كمثال فإن مثبط تربسين الخردل - MTI 2 مع Arg عند موقع P1 يكون مثبط قوى للتربسين ولكنـه غيـر قـادر علـى تثبـيط الكيموتربسين . عندما يتغير P1 -2 MTI فى الليوسين Leu فإن المثبط يـصبح فعـال ونشط ضد الكيموتربسين ويفقد معظم نشاطه وفاعليته ضد التربسين . لذلك فإن تخصص MTI -2 يسيطر عليه بوضوح بواسطة بقايا P1 . مع PI -2 من جهة أخرى فإن المثبط مع Arg عند الموضع P1 تثبط كلا التربسين والكميوتربسين . هذا يوضح أنه فى حالـة PI -2 فإن التلامس بين الإنزيم والمثبط خارج الموقع P1 يلعـب دوراً ضـرورياً فـى التمييز. بوجه عام فإن طبيعة بقايا P1 يمكن أن تمكن من التنبؤ بقسم الإنزيم الذى يحدث له تثبيط .

البقايا الملامسة خارج PI تلعب دوراً فى التمييز بين الإنزيم والوسيط . خاص يمثل بروتينيزيس تنظيمية والتى تنشط بشكل متخصص البروتينات الأولية . الثرومبين كمثـال يملك أخدود موقع نشط للسانيون يبنى أساساً من اثنان من الدوائر الكبيرة نسبياً حول البقايا 50 , 150 . نتيجة لذلك فإن الوسائط ذات الشكل المناسب فقط (مثـل الفيبرونـوجين) والمثبطات تكون لها توافق مع موقعها النشط . معظم البروتينيزيس تحتوى على أخـدود للوسيط ولكن يكون عادة أكثر فى العرض ومن ثم يكون أقل اختيارية عما هو الحال مـع الثرومبين . هذا يمثل الحقيقة بوجه خاص للبروتينيزيس على غرار التربسين مـع مـدى عريض من الوسائط كتلك التى تشترك فى هضم بروتينات الطعام .

مازالت بقايا المثبط حول PI داخل عائلة الجين مفرطـة التبـاين بالنـسبة لبـاقى البروتين. باستخدام سلاسل من الوسائط الفلوروجينية وأتضح إمكانية التحقق مـن أهميـة

البقايا المجاورة لبقايا PI لغـرض كفـاءة الانقـسام (Gosalia et al., 2005) . هـذه الممارسات توضح أن البروتينيزيس المرتبطة تستطيع تكوين أو إحداث قابليـات مختلفـة للوسائط (والمثبطات) بواسطة التداخل مع الأحماض الأمينية حول موقع الانقسام الأولى . لقد قام الباحث Loskowski ومعاونوه بتحليل دائرة ارتباط الإنزيم للمثبطات من عائلة مثبط التربسين أفوميوكويد فيما يزيد عن ١٠٠ نوع من الطيور ووجدوا أن البقايـا المعروف تلامسها الإنزيمات المستهدفة مختلفة على وجه الخصوص بين هذه الأنـواع . هذه الاختلافات توضح تكيفات فى عائلة المثبط تجاه البروتينيزيس المختلفـة المـستهدفة والتى بدورها تحدث تغيرات فى الحمض الأمينى عند منطقة الارتباط فيما بين السطوح .

لقد وجدت اختلافات مؤكدة أكثر بين العائلات المختلفة من مثبطات البروتينيز . هذه الاختلافات تتضمن عدد من التلامسات التى تحدثها مع الـدوائر المختلفـة للبروتينيـز . الجدول (٧-٢) يلخص التلامسات التى وجدت فى التراكيب البللورية لثلاثة أقـسام مـن المثبطات النباتية مع البروتينيزيس مثل التربسين . بينما جميع المثبطات تعمل ملامـسات خلال بقايا PI والبقايا الأخرى تحدث الاختلاف . كمثال فإن PI -2 له تداخلات مع الدائرة حول بقايا التربسين ١٧٠ (تشترك فى مواقع S2 , S3 , S4 للبروتينيز) بينمـا BBI , SKTI تعانى من نقص هذه التداخلات . على العكس فـإن SKTI تعمـل عـدداً مـن التلامسات للدائرة حول بقايا التربسين 150 بينما هذه التلامسات تغيب فى BBI , PI -2 . لقد وجد أن BBI له محدودية كبيرة جداً فى التلامس مع الدوائر التى تكون جيوب S1 , S2 ... الخ حيث يلامس بقايا التربسين 1> فقط بينما SKTI وخاصة PI-2 لهـا بقايـا عديدة تلامس جيوب S2 , S1 ... الخ . فى الشكل (٧-٢) يتضح تلامسات متناهية لمثبط البروتينيز للأنواع المختلفة من المثبطات . هذا يوضـح أن العـائلات المختلفـة لمثـبط البروتينيز تتكامل تبعاً لمواقع تمسها مع البروتينيزيس . هذا التكامل الملاحظ قـد يكـون محدداً لتحقيق الدفاع الفعال ضد آكلات الأوراق مع برتيتيزيس الهضم المختلفة وقد تفسر وجود عائلات متنوعة من المثبط .

جدول (٧-٢) : التداخل بين بقايا البروتينيز والمثبطات المختلفة . العمود الأول يوضـح مناطق البروتينيز المعرضة للمثبط . العمود الثانى يوضـح لأى جيـوب ارتباط للوسيط تساهم المنطقة . الأعمدة الثالثة والرابعة والخامسة يوضح البقايا داخل دوائر البروتينيز التى توجد فى تلامـس مـع المثـبط تبعـاً Greenblatt et al., (1989) , Song and Suh (1998) and Koepke et al., 2000 . البقايا أخذت أرقام تبعاً لتسمية الكيموتربسين .

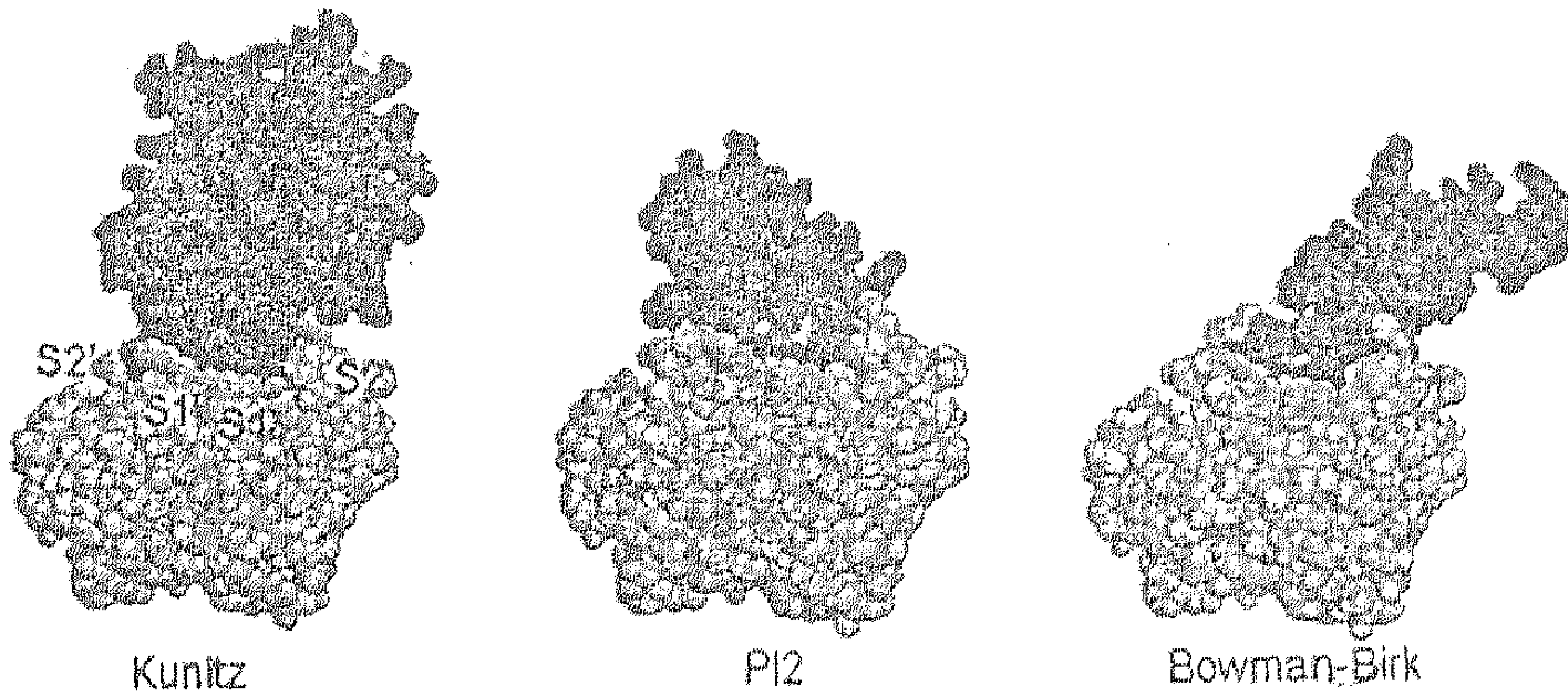
Region	Pocket	Contacts to SKTI	Contacts to PI-2	Contacts to BBI

40 loop	S1' S2' S3'	40 – 42	38 – 42	41
	S1	57	57	57
60 loop	S1' S2	60	-	-
90 loop	S2	94,96,97,99,102	-	97,99
150 loop	S2'	151	-	-
170 loop	S2,S3,S4	-	-	-
	S1	189 – 195	169 , 171	-
217 loop	S3,S4,S5	214-217,219,220	214-217,219	213,215-217,219

٣-٢- البروتينات متعددة الأصول والملكية : إذا لم تستطيع ردها أو ضربها ارتبط بها أو استبعادها

من الخصائص الإضافية المثيرة لمثبطات البروتييز النباتى ميلها للحدوث كبروتينات متعددة الأصول أو متعددة الملكية والتى تستهدف فى الغالب البروتيبزيس من الأقسام المختلفة وحتى الأميليزيس . لقد سبق مناقشة الموضوع من جراء ملاحظات مجموعة Terra من أن بعض إنزيمات الهضم لحشرة Spodaptera frugiperda تحدث على صورة متعددة الأصول معقدة . من أحد الفرضيات أنه إذا كانت كلا المثبطات والبروتيبزيس / أميليزيس (متعددة الأصول) واثنان أو أكثر من جوانب التلامس أحدهما مع الآخر فإن هذا يؤدى إلى حدوث بلمرة فى واحد أو أكثر من الأبعاد . هذا البوليمر للبروتين الملامس سيكون أقل فاعلية فى توفير وسائط البروتين ومع درجات قليلة من الحرية ومن الأفضل منع تفرق معقد المثبط – الإنزيم فى هذا الطريق فإن معقدات البروتييز – المثبط مع ثوابت تفرق فقيرة ستبقى فعالة فى السيطرة على نشاط الإنزيم . الارتباطات متعددة الأصول والملكية للمثبطات قد تمثل صفة نشوئية ذات ميزة للنبات . ليس واضحاً كيف أن الارتباطات متعددة الأصول لإنزيمات البروتييزيس تمثل ميزة للحشرة . لقد نوقش هذا الموضوع فى دراسة ثانية على دودة اللوز الأمريكية (Brito et al., 2001) حيث وجد البحاث أن الصور متعددة الأصول للتربسين تحفز بوجه خاص استجابة للمثبطات PI's ومن ثم تكون أقل حساسية لمثبطات PI's . هذا أدى بالبحاث لافتراض أن الارتباط متعدد الأصول قد يمسكها فراغيا ويجعلها أقل حساسية للمثبطات .

إذا كانت الإنزيمات معقدة ليس فى الجدار ولكنه مع المواقع الفعالة جنباً إلى جنب مع بعضها فإن هذا بالتأكيد يخلق إمكانية حقيقية كما لوحظ سابقاً للتربتييز الآدمى (Pereira et al., 1998) . لذلك توجد طرق لكلا النباتات والحشرات للبروتييزيس المرتبطة أو المثبطات كى تزيد أو تقلل من التثبيط . مازال مطلوباً المزيد من البحث لتوضيح حقيقة ونجاح هذه الاستراتيجيات على كلا النبات والحشرة من المؤكد أن هذه الخصائص التركيبة تقدم بعداً إضافياً لدراسة وفهم هذا النوع من الدفاع النباتى .



الشكل (٧-٢) : معقدات البروتينيز – المثبط . المعقدات الثلاثة تمثل بورسين تربسين فى معقد مع SKTI (اليسار) و PI -2 (فى الوسط) و BBI (اليمين) . الإنزيم مظلل بلون خفيف والمثبطات مظللة بسواد غامق . الإنزيمات من تراكيب أشعة – X الأصلية (تربسين بورسين البنكرياس فى حالة SKTI وبروتينيز B للأستربتومايسيس جريسيس فى حالة PI -2 والتريبسونجين بنكرياس البقر فى حالة BBI) جميعها يحدث لها إحلال بواسطة تربسين بنكرياس البورسين بواسطة الإحلال الجزيئى باستخدام مخلفات التحفيز كمنسقات ثابتة والتوجيه فى هذا المجال يكون متماثلاً مع الإنزيمات . مواقع الإنزيم S2' , S1' , S1' , S2' موضحة فى تركيب كوينتز .

٤- الحشرات تناضل أو تقاوم رجعياً The insect fight back

٤-١- نشوء الانسداد الاستراتى Evolution of steric occlusion

النباتات تشرك أقسام مختلفة من المثبطات حيث يفترض أنها تمثل استراتيجية للدفاع عن نفسها ضد هجوم الحشرات ومسببات الأمراض (Ryan , 1990) . العديد من النباتات تنتج مثبطات بروتييز عند حدوث الجروح وتملأ أعضاء تخزين البروتين مثل

البذور والثمار والدرنات مع مثبطات البروتييز لجعلها غير مناسبة غذائيا لآكلات النباتات . هذا ولو أن الحشرات التى تعتمد على البروتينات النباتية كمصدر للأحماض الأمينية والضغوط الانتخابية القوية تعمل لتجنب فعل المثبطات . لقد ناقشنا قبلا الارتباطات عديدة الأصول كطريق يمكن أن ينشأ لتجنب دخول المثبطات فى المواقع الفعالة للبروتييز . هذه الإمكانية مازالت فى نطاق الفرضيات ولو أنها مازالت فى حاجة لتقريز تجريبى . الاستراتيجية الثانية الموثقة جيداً نشأت أساساً فى الحشرات العامة مثل Helicoverpa وديدان الورق والتى تكيفت مع العديد من التراتيب والتحويرات فى المثبطات . الاستعمار الناجح للعديد من الأنواع النباتية المختلفة بواسطة هذه الحشرات تبنى على مقدرتها للتحول إلى حزمة مختلفة من البروتييزيس عندما وجود مثبطات البروتييز فى غذائها . خصائص هذه الحزمة المحفزة من البرويتيزيس تتمثل فى عدم حساسيتها لمدى عريض من المثبطات . هذه الخاصية لوحظت بداية منذ حقب زمنية مضت ,.Jongsma et al) 1995) ومنذ ذلك الوقت وجدت فى العديد من الآفات الحشرية (.Bown et al 1997,2004 ; Mazumdar – Leighton and Rroadway 2001 a; Volpicella . (et al., 2003

السؤال المطروح الآن : ما هى الأسباب التى حققت مقاومة هذه البروتييزيس للتثبيط؟ عن طريق تحليل التعبير الجينى فى المعدة تم تعريف تتابعات البروتييزيس الذى يحفز بمجرد تناول مثبطات البروتييز . هذا ولو أنه فى غياب نظام التعبير المندمج لا يكون فى الإمكان تحليل نشاط المثبطات المختلفة للبروتيزيس الفردية . لقد تم تنقية البروتينيزيس من معدة آكل النبات لتعريف البروتينيزيس السائدة المشتركة فى هذا التحول ولتحليل تداخلاتها مع مثبطات النبات فى تحليل التثبيط وبواسطة نمذجة البروتين . البروتينيزيس فى معدة حشرة Helicoverpa التى تحفز بواسطة تناول SKTI تم مقارنتها بالإنزيمات المعزولة من الأمعاء غير المحفزة . أقسام هذه الإنزيمات متساوية النشاط على الوسائط البروتينية ولكنها تختلف بشكل متناهى فى حساسيتها للمثبطات من الأربعة أقسام ولكنها تختلف بشكل متناهى فى حساسيتها للمثبطات من الأربعة أقسام

المختلفة . التربسين السائد المعزول من الأمعاء المحفزة بمركب SKTI كان غير حساس بشكل كامل لتركيز أكبر ١٠٠٠ مرة من أى من المثبطات الأربعة المختبرة وكان كل منها ذات تراكيب مختلفة لمرات عديدة . من جهة أخرى لوحظـت إنزيمـات ذات درجـات حساسة مختلفة لأقسام المثبطات المختلفة . كمثال فإن الكيموتربسين المحفـزة بواسـطة SKTI كان أكثر حساسية لمثبطات PI -2 عن المثبطات الأخـرى . أظهـرت مجـاميع أخرى اختلافات فى قاعلية المثبطات المشتقة من الفاصـوليا والبطـاطس للبروتينيـزيس نصف المنقى فى حشرة H.ormigern . لقد أظهـرت هـذه النتـائج أن حزمـة مـن البروتينيزيس المختلفة يمكن أن تنتشر بواسطة الحشرات المتكيفة مع حـساسية مختلفـة للمثبط .

ماذا يجعل البروتيينيز غير حساس للمثبط ؟ استخدام الوسـائط المخلقـة أظهـرت اختلافات واضحة وثيقة الصلة بين الإنزيمات المحفـزة بمركـب SKTI والتكوينيـة . البنزويل – Arg – PNA الذى يحمل مجموعة بنزويل على الوضع P2 تم هضمه بكفاءة أقل عشر مرات بواسطة التربسين المحفز – SKTI بالمقارنة بالتربسين غير المحفز بينما الوسائط مع Phe أو Arg فى الوضع P2 لا تميز بين نوعى البروتينيزيس . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بأن خصائص تركيبية هامة توجد فى الموضع S2 للتربسين المحفـز التـى ترتبط بمقاومة للمثبطات . هذا ولو أن طبيعة أن ملامح التركيب لا يمكن أن تتحقق فـى غياب نظام تعبير مدمج ناجح وتراكيب بللورية للبروتينات .

الرؤية التى لا لبس فيها فى الأساس التركيبى لمقاومة بـورتيزيس فـى الحـشرات للمثبطات النباتية تم الحصول عليها لأول مرة من التركيب البللورى لإنـزيم دودة اللـوز الأمريكية الكربوكسى ببتيداز B (Bayes et al., 2005 , 2006) . هذا الإنزيم يشار إليه CPBH2 يقاوم التثبيط بواسطة مثبط كربوكسى ببتيداز البطاطس (PCI) الذى يثـبط جميع الإنزيمات الأخرى المعروفة من هذا القسم بما فيها كربوكسى ببتيـداز A لحـشرة Helicoverpa (CPAH a) . التركيب البللورى CPBHZ يوضح مدارين على السطح للإنزيم مما يفترض موضع غير عادى بالمقارنة بالإنزيمات المثبطة بالمقارنة بالإنزيمات

المثبطة المرتبطة مثل CPAHa فى المعقدات ذات القابلية العالية فإن هذه المناطق تثبت التداخل بين الكربوكسى ببتيداز والمثبط . هذا التداخل يتكون بداية بواسطة إدخال الذيل الطرفى – C المرن والمثبط PCI الذى يوجد بقايا PI , P1' لجيب الموقع النشط . هذا وبسبب إحلال هذه الدوائر على سطح الإنزيم فإن المثبط يرتبط بأكثر من موقع بعيد نسبياً عن الموقع الفعال . بالتتابع فإن مخلفات تكون غير قادرة على نفاذ الموقع الفعال بعمق كافى لتحقيق تداخل قوى ومن ثم يفقد التداخل بسهولة .

ميكانيكية النشوء التى يمكن خلالها يتجه البروتيزيس تجاه عدم الحساسية للمثبطات يمكن معرفته جزيئاً بمقارنة التتابع الطفرى مع السلسلة الأقرب من الحساسية للمثبط PI . إحلال دوائر البروتييز تشترك فى العملية كما يتضح من تركيب CPBHZ . فى واحد أو اثنين من الدوائر يكون الإحلال مصحوباً بواسطة إدخال بقايا نسبية إلى الإنزيمات الحساسة – المثبط بينما فى دائرة أخرى فإن البقايا الفردية تشطب . فى كلا الدائرتان فإن عد الطفرات الملحوظة يكون أعلى بالمقارنة بالأجزاء الأخرى من الجزىء . من المثير للدهشة أن البعض قد يتنبأ بأن النبات سوف يعيد تثبيط CPBHZ بواسطة غرس بقايا إضافية فى الذيل شبيه الوسيط من PCI مما يسمح ببقايا PI بالوصول إلى حفرة الموقع النشط ولكن المثبط مع الذيل الممتد لم يوجد أو حدث له إنشاء .

٤-٢- فقد النشاط مع بروتيزيس خاصة

ولو أن هناك ثبات عام ضد العديد من البروتيزيس فإن بعض الحشرات تخلق بروتيزيس خاصة قادرة على هدم مثبطات بروتييز النبات بكفاءة . لقد لوحظت هذه الظاهرة حديثاً مع Plutella xylostella التى تهدم MTI -2 عندما يعبر عنها فى نباتات الأرابيدوبسيس . الآخرون وجدوا هدم لمثبطات البروتييز الغذائى بواسطة الحشرات مثل سوسة العنب السوداء ودودة اللوز الأمريكية .

٥- المنظورية Perspectives

٥-١- التشريع والتنظيم هو الأساس : هل الحشرات والنباتات كلاهما يفكر فيه ؟

Regulation is the Key : Did Insects and Plants Both Think of It?

وجود البروتيزيس غير الحساس للمثبط PI فى معدة الحشرة والتنظيم الفائق الخاص فى الاستجابة لمثبطات البروتييز فى الغذاء تقدم فائدة واضحة للحشرة وهذا تم استكشافه بواسطة بعض أنواع الميكانيكية الرجعية والتى لم تتأكد بعد . هذا ولو أن الملاحظة المتوازية للإنزيمات الحساسة مازالت تحت مستوى التنظيم إلا أنها تكون نافعة لكلا الحشرات والنباتات على السواء . الحشرات لا تضيع طاقتها على بروتيزيس غير نافعة (مثبطة) ولكن النباتات على نفس المنوال إذا كانت تحكم هذه العملية تستهلك طاقة أقل فى تخليق تركيز فعال من المثبط . فى الحقيقة فإن النباتات تستطيع وبنجاح تضاد نظام التنظيم الرجعى العامل فى معى الحشرات للبروتيزيس الحساسة وغير الحساسة لمثبط PI وقد وجد فيها طريق ثانى مستقل للتثبيط المباشر لتحقيق نفس النتيجة الصافية : مستويات بروتييز منخفضة فى المعدة مما يؤدى إلى تطور بطىء وموت أعلى . السطو على تنظيم البروتييزيس فى معدة الحشرة والبحث فى النباتات ومنعها من تحقيق هذا الهدف تمثل الهدف للحشرات : والمرحلة الثانية الجذابة لمعركة النشوء بين البروتيزيس والمثبطات .

السؤال المطروح الآن : هل النص مكتوب ؟ كيف هو ... هل النباتات أنشأت هذه الإشارات لغرض خاص يتمثل فى التنظيم للبروتيزيس فى الحشرات ؟ فى الوقت الراهن يوجد قليل من هورمونات الببتيد المعروفة للمستقبل الذى يعول التنظيم الأدنى أو الأعلى لبروتييزيس السيرين . فى الثدييات فإن ببتيد المستكشف وهو أحد أفراد عائلة جين PSTI وعامل التحرر الضوئى أو التجويفى كولى سيستوكينين LCRF والمعروف عنه تنظيم عالى لإفراز بروتييز البنكرياس عن طريق تنشيط تحرر وانفراد كولى سيتوكينين فى الدم. زيادة البروتيزيس يهدم بالتبعية المستكشف / ببتيدات LCRF وإيقاف الإفراز . فى البعوض فإنه بعد تناول وجبة الدم فإن هورمون Oostatic أو عامل نموذج التربسين لهذا الهورمون (TMOF) هو الببتيد الوحيد الذى وجد وينظم التأشير الفعال لإفراز التربسن فى المعدة .

من الواضح أن ببتيد TMOF الذى يتكون من عشرة أحماض أمينية فقط نشط وفعال كذلك فى آكلات الأوراق من رتبة حرشفية الأجنحة مثل دودة اللوز الأمريكية . TMOF ينظم قليلاً نشاط إفراز البروتييز عندما يحقن فى هيموليمف اليرقات (Nauen et al., 2001) ومن المدهش كذلك أنه عندما يعبر عنه فى النباتات يندمج مع الببتيدات الأخرى وعندما يصل لليرقة خلال المعدة بعد أكل أوراق النبات . عندما يكون التعبير مؤشراً من خلال انقسام تكرار الأساسيات الستة أو إحلال السيستيمين فى بروسيستمين أو فى دمج

الكربون الطرفى مع البروتين المغلف لـــ TMV , TMOF فانه يخفض مــن تطــور اليرقات وينقص من كلا تربسين المعدة أو نشاط الكيموتربسن .

ببتيد TMOF يفترض إشارات خلال التداخل مع المستقبلات التى توجد فى الخلايــا التى تبطن المعدة . هذا يوصلنا إلى المجال غير الواضح عن مثبطات البروتييز النباتى . هذه المستقبلات تعتبر كذلك أهداف مؤثرة لببتيدات النبات أو البروتينات لإفساد فسيولوجى المعدة : وظيفة أو وظائف الببتيدات ذات النتروجين أو الكربون الطرفى التى تمتــد مــن معظم المثبط الأساسى مع النباتات الموصفة . الإمدادات تظهر فى تباين كبيــر واضــح كلاهما فى الطول والتتابع داخل معظم عائلات جين المثبط . كمثال فإن الجــدول (٧-٣) يوضح امتداد الببتيدات من الصور الناجحة لمثبطات بومان - بيرك التى توجد فى فــول السودانى وفول الصويا . هذه التتابعات تمثل ادخال متخصص و / أو شطب . الإمدادات لا يتضمن فى المثبطات التحت خلوية المستهدفة حيث أن البروتينات الناجحة فقط اتضحت والببتيدات المستهدفة تم إزالتها فعلاً . الوظائف المؤثرة تشمل تحوير PI لجزىء البروتين لمؤازرة التداخل مع البروتييز أو غيره والارتباط مع المستقبلات الخلوية التى تبطن معدة آكل الأوراق لمؤازرة أو تضاد عمليات التنظيم فى الحشرة .

جدول (٧-٣) : مقارنة الببتيدات ذات النتروجين والكربون الطرفى لمثبطات بومـــان – بيرك فى الفول السودانى وفول الصويا الممتد خارج المثــبط الأساســى القاعدى والذى لم تسجل أى وظيفة له .

Source	Code[1]	N-terminal sequence[3]	Inhibitor[2]	C-terminal sequcence3
Soybean	MER21210	DQSSSYDDDEYSKPCC-	-inhibitor-	-CKSRDD
Soybean	Mer21212	SDHSSDDESSKPCC-	-inhibitor-	-CKSSDEDDD
Soybean	MER19956	SDHHQHSNDDDSSKPCC-	-inhibitor-	-CKPSEDDKENY
Soybean	MER19957	SDHHQHSNDDESSKPCC-	-inhibitor-	-CKPSQDDKENY
Peanut	MER18102	EASSSDDNVCC-	-inhibitor-	-CRS
Peanut	MER18107	AASDCC-	-inhibitor-	-CA

1 Codes refer to the MEROPS protease inhibitor database : intip://mecrops.sanger.ac.uk/

2 This represents the conserved two domains involved in proieas inhibition

3 The sequence represent the mature stored form after removal of the signal peptide and other targeting peptides

References

Abdeen A, Virgos A, Olivella E, Villanueva J, Aviles X, Gabarra R, Parl S (2005) Multiple insect resistance in transgenic tomato plants over-expressing two families of plant proteinase inhibitors. Plant Mol Biol 57:189-202

Beekwilder J, Schipper B, Bakker P, Bosch D, Jongsma M (2000) Characterization of potato proteinase inhibitor II reactive site mutants. Eur J Biochem 267:1975-1984

Bode W, Huber R (2000) Structural basis of the endoproteinase-protein inhibitor interaction. Biochem Biophys Acta 1477:241-255

Brito LO, Lopes AR, Parra JRP, Terra WR, Silva MC (2001) Adaptation of tobacco budworm Heliothis virescens to proteinase inhibitors may be mediated by the synthesis of new proteinase. Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol 128:365-375

Clauss MJ, Mitchell-Olds T (2004) Functional divergence in tandemly duplicated Arabidopsis thaliana trypsin inhibitor genes. Genetics 166:1419-1436

De Leo F, Gallerani R (2002) The mustard trypsin inhibitor 2 affects the fertility of Spodoptera littoralis larvae fed on transgenic plants. Insect Biochem Mol Biol 32:489-496

Ferry N, Edwards MG, Gatehouse J, Capell T, Christou P, Gatehouse AMR (2006) Transgenic plants for insect pest control: a forward looking scientific prespective. Transgenic Res 15:13-19

Girard C, Le Metayer M, Bonade-Bottino M, Pham-Delegue MH, Jouanin L (1998) High level of resistance to proteinase inhibitors may be conferred by proteolytic cleavage in beetle larvae. Insect Biochem Mol Biol 28:229-237

Green TR, Ryan CA (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects. Science 175:776-777

Hilder VA, Gatehouse AMR, Sheerman SE, Barker RF, Boutler D (1987) A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. Nature 330:160-163

Iwai K, Fushiki T, Fukuoka S (1988) Pancreatic-enzyme secretion mediated by novel peptide: monitor peptide hypothesis. Pancreas 3:720-728

Jongsma MA, Bolter C (1997) The adaptation of insects to plant proteinase inhibitors. J Insect Physiol 43:885-895

Kunitz M (1946) Crystalline soybean trypsin inhibitor. J Gen Physiol 29:149-154

Liu YL, Salzman RA, Pankiw T, Zhu-Salzman K (2004) Transcriptional regulation in southern corn rootworm larvae challenged by soyacystatin N. Insect Biochem Mol Biol 34:1096-1077

Michaud D (1997) Avoiding protease-mediated resistance in herbivores pests. Trends Biotechnol 15:4-6

Moon J, Salzman RA, Ahn JE, Koiwa H, Zhu-Salzman K (2004) Transcriptional regulation in cowpea bruchid guts during adaptation to a plant defense protease inhibitor. Insect Mol Biol 13:283-291

Nauen R, Sorge D, Sterner A, Borovsky D (2001) Tmof-like factor controls the biosynthesis of serine protease in the larval gut of Heliothis virscens. Arch Insect Biochem Physiol 47:169-180

Pereira PJB, Bergner A, Macedo-Ribeiro S, Huber R, Matschiner G, Fritz H, Sommerhoff CP, Bode W (1998) Human B-tryptase is a ring-like tetramer with active sites facing a central pore. Nature 392:306-311

Qu LJ, Chen J, Liu MH, Pan NS, Okamoto H, Lin ZZ, Li CY, Li DH, Wang JL, Zhu GF, Zhao X, Chen X, Gu HG, Chen ZL (2003) Molecular cloning and functional anaylsis of a novel type of Bowman-Birk inhibitor gene family in rice. Plant Physiol 133:560-570

Ryan CA (1990) Protease inhibitors in plants – genes for improving defenses against iinsects and pathogens. Ann Rev Phytopathol 28:425-449

Song HK, Suh SW (1998) Kunitz-type soybean trypsin inhibitor revisited: refined structure of its complex with porcine trypsin reveals an insight into the interaction between a homologous inhibitor from Erythrina caffra and tissue-type plasminogen activator. J Mol Biol 275:347-363

Tortiglione C, Fogliano V, Ferracane R, Fanti P, Pennacchio F, Monti LM, Rao R (2003) An insect peptide engineered into the tomato prosystemin gene is released in transgenic tobacco plants and exerts biological activity. Plant Mol Biol 53:891-902

Volpicella M, Ceci LR, Gallerani R, Jongsma MA, Beekwilder J (2001) Functional expression on bacteriophage of the mustard trypsin inhibitor MTI-2. Biochem Biophys Res Commun 280:813-817

Yang L, Fang ZY, Ducke M, van Loon JJA, Jongsma MA (2008) The diamondback moth, Plutella xylostella specifically inactivates Mustard Trypsin Inhibitor 2(MTI2) to overcome host plant defense (submitted).

Zimmermann P, Hirsch-Hoffmann M, Hennig L, Gruissem W (2004) Genevestigator. Arabidopsis microarray database and analysis toolbox. Plant Physiol 136:2621-2632

ثانياً : الأدوار الدفاعية لإنزيم فينول اكسيديز فى النباتات

Defensive Roles of Polyphenol Oxidase in Plant. C. Peter Constabel and Raymond Barbehenn

البولى فينول اكسيديز (PPO's) النباتية تتوزع بشكل عريض وهى من إنزيمات الأكسدة التى درست جيداً كما أن تأثيراتها فى فقد الاخضرار فى الأنسجة النباتية التالفة والمريضة عرفت منذ سنوات طويلة . الاكتشاف الذى تحقق فى معمل C.A. Ryan's فى منتصف التسعينات بأن إنزيمات PPO فى الطماطم يحفز بواسطة إشارات الدفاع لآكلات الأوراق خاصة السيستمين والجسمونات مع الدراسات عن البذور المستقبلية على PPO's عن التأثيرات الممكنة على الحشرات آكلات النباتات بواسطة G.Felton , S.Duffey نشطت العديد من الدراسات إلى PPO ودورها فى تحقيق الدفاعات النباتية ضد آكلات النباتات . كلونة وتوصيف DNAs , PPO من الأنواع النباتية العديدة سمحت بإجراء اختبارات مباشرة فى الوقت الحالى عن وظائف الدفاع لإنزيمات PPO باستخدامات النباتات المتحولة وراثياً . أوضحت هذه الدراسات أن PPO تساهم فى مقاومة آكلات النباتات ومسببات الأمراض النباتية ولو أن كيفية حدوث ذلك مازال فى مرحلة الدراسة المستفيضة . فى هذا المقام سوف نستعرض التقدم فى تحليل وظائف إنزيمات PPO فى الدفاع النباتى ضد الآفات ووصف الدراسات التى تناولت ميكانيكيات هذه الإنزيمات كبروتين مضاد لآكلات الأوراق . هناك اقتراح بأن الفرضيات بكيفية عمل PPO فى الدفاع كمضادات للتغذية ضد حشرات حرشفية الأجنحة فى حاجة لإعادة الفحص فى ضوء الظروف القريبة من اللا هوائية فى معدة حشرات حرشفية الأجنحة . فى النهاية يجب إجراء اختبارات مباشرة عن فاعلية PPO فى أنواع عديدة من التداخلات بين النبات والحشرة . بالإضافة إلى ذلك فإن تعريف الوسائط الداخلية لإنزيمات PPO سوف تساعد فى تعريف الأدوار الدفاعية وغيرها لهذه الإنزيمات فى النباتات .

C.P. Constabel

Centre of Forest Biology and Department of Biology , University of Victoria , Victoria , BC , Canada V8W3N5 .

e-mail : cpc@uvic.ca

A. Schaller (ed.), Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

إنزيمات البولى فينول اكسيديزيس PPO's هى إنزيمات محدودة الوجود تحتوى على النحاس حيث تستخدم الأكسجين الجزيئى لأكسدة مركبات أورثو – داى فينوليك الشائعة مثل حامض الكافيك والكاتيكول إلى الكينونات المقابلة PPO – الكينونات الناتجة عالية النشاط وقد تكون رابطة عبورية أو تؤلكل البروتينات مما يؤدى إلى ظهور الصبغات البنية الشائعة فى أنسجة النبات التالفة وفى المستخلصات النباتية . الصبغات الظاهرة غير مطلوبة فى المنتجات الغذائية ودور PPO فى التلوين البنى خطى بدراسات عديدة عن PPO فى الغذاء والمشروبات . بالتوازى فإن الأدوار الهامة لإنزيمات PPO فى دفاعات النباتات ضد الآفات خطية كذلك بالعديد من الدراسات عن PPO فى النواحى الايكولوجية والقليل منها تناولت اقتراب الهندسة الوراثية . دراسات الوظائف والميكانيكيات عن PPO فى التداخلات بين النبات والحشرة باستخدام PPO فى النباتات المحورة وراثياً تعاظمت فى الوقت الراهن مما أدى إلى ظهور رؤية جديدة فى بيولوجية هذا الإنزيم واسع الجوانب .

٢- الكيمياء الحيوية للبولى فينول اكسيديز النباتى

إنزيم بولى فينول اكسيديز (كاتيكول اكسيديز E.C.1.10.3.2) تم تنقيته وتوصيفه من مدى عريض من الأنواع النباتية والأنسجة وقد وجد أن مستويات النشاط مع استخدام الوسائط الشائعة تتفاوت بشكل عريض . الخصائص المميزة لإنزيمات PPO's تتمثل فى اثنين من ارتباطات النحاس السائدة وكذلك كلوروبلاست بها نتروجين طرفى وببتيدات انتقالية للثيلاكويد . حجم بروتينات PPO الناضج المتنبأ به يساوى 54-62 KD . هذا ولو أن بعض PPO's يحدث لها عمليات إضافية وفى بعض الحالات تكون المنتجات النهائية لهذه العمليات هى الصورة كاملة الفاعلية . لقد أمكن التنبؤ بأن العديد من'PPO تحتوى على موقع عمليات تحلل مائى للبروتين بالقرب من الكربون الطرفى للببتيدات العديدة (Marusek et al., 2006) .

بناء على ارتباط هذا الإنزيم بتفاعلات اللون البنى فى النباتات فقد تم توصيف PPO فى مدى عريض من النباتات الغذائية بما فيها الموز والقمح والأفوكادو والسفرجل وعدد من المثبطات الكيميائية تم تعريفها (Mayer . 2006) . كذلك وجد PPO بمستويات عالية من أنواع الثمار والخضراوات والحبوب ولكن وظيفته البيولوجية نادراً ما درست . PPO يعبر عنه فى العديد من الأنسجة والأعضاء المختلفة بما فيها الجذور والأوراق والزهور والأنسجة الوعائية . وجود هذا الإنزيم من البلاستيدات الخضراء أدى إلى الاقتراح بأن PPO قد يؤدى وظيفته فى الفسفرة كاذبة الحلقية أو كموجة أو منظم لمستويات الأكسجين وحتى الآن لا يوجد سوى القليل من الأدلة تعضد هذه الأدوار .

الإصدار المعقد عن وظيفة PPO يتمثل أو يشير إلى الموضع المنفصل لوسائطه الفينولية فى تجاويف النبات ومن ثم فإن الخلية يجب أن تكسر لكى يقوم إنزيم PPO بأكسدة الفينولات وهذا يحدث بعد هجوم الآفة أو الممرض . لقد تمت مناقشة أدوار PPO فى الدفاع النباتى ولم تتوفر أدلة مباشرة عن هذه الأدوار إلا حديثاً .

من الخصائص المحيرة لإنزيمات PPO درجة التباين فى الكمون Latency ومن ثم فإن PPO's من بعض الأنواع يحتاج إلى تنشيط مع المنظفات أو البروتييزيس لتحقيق النشاط الكامل . كمثال فإن PPO أوراق الطماطم يستخلص بنشاط كامل ولكن PPO الأوراق الشائع يتطلب تنشيط مع البروتييز أو المنظف (Constabel et al., 2000) . لقد اقترحت الدراسات الحديثة أن معاملات التنشيط هذه تعمل بواسطة إزالة الببتيد من الموقع النشط عبر التحلل المائى للبروتين Proteolysis أو عدم الانثناء الجزئى للبولى ببتيد على التوالى . المعاملة بدرجة حموضة pH منخفضة تستطيع تنشيط إنزيمات PPO's الكامنة ويفترض أن يحدث ذلك عبر التغير التنسيقى للموقع النشط مما يزيد من استيعابه للوسائط (Kannade et al., 2006) . كمون PPO قد يكون مؤثراً لتحقيق وظيفتها الدفاعية . لقد ظهر حديثاً أن إنزيم PPO الشائع الكامن ينشط عن طريق مروره خلال معدة الديدان (Wang and Constabel , 2004) .

ذات تخصصية عريضة للوسيط . لذلك فإن الإنزيم من أى POP'sمن المعروف أن مصدر قد يكون قادراً على أكسدة أنواع من الأورثو – دايفينول مثل حامض كافيك ونواتج . هذا ولو أن (DOPA)اقترانه ومشتقات الكاتيكول أو ديهيدروكسى فينيل الانين الإنزيمات من أنواع نباتية مختلفة تحقق بروفيللات تفضيل متميزة . الفلافونويدز مع وكمثال PPOحلقات الأورثو – دايهيدروكسى فينوليك وجدت تعمل كوسائط لإنزيم كاتيشين (–) إيبى كاتيشين والميريستين . لقد وصفت بعض التقارير كذلك أكسدة تراى ولكن لم PPO (Shin et al., 1997)هيدروكسى فينولات مثل حامض جالليك بواسطة PPO'sيكن من الواضح كيف ينتشر ذلك بشكل عريض . بالإضافة إلى ذلك فإنه لبعض تم وصف نشاط مونوفينوليز . هذه الإنزيمات قد تحدث هيدروكسلة للمونوفينول مثل تيروسين والذى قد تحدث له أكسدة إضافية بواسطة نشاط إنزيم بولى فينيل اكسيديز إلى فى حشيشة عنب الذئب حيث أن هذا PPOالكوينون . هيدروكسلة الثيروسين بواسطة التفاعل يكون جزء من مسار التخليق الحيوى مؤدياً إلى البتالينز(Gandia – Herrero et al., 2005).

بينما مدى الوسائط المقبولة بواسطة إنزيمات PPO's المعزولة يسهل تعريفها خارج النبات ولكن معلوماً أن الوسائط التى تستخدم فى النباتات أو خلال تفاعلات الدفاع نادرة جداً . إسترات حامض الكافيك مثل حامض كلوروجينيك (كافيول كوينات) تعتبر وسائط

ممتازة لإنزيمات PPO وهى نواتج تمثيل ثانوية شائعة جداً . فى الطماطم والبن تم تعريف حامض الكلوروجينيك كوسيط شائع لإنزيم PPO فى داخل النباتات . استرات حامض الكافيك محدودة الوجود كبادئات لجنين ولكن فى معظم الأنواع فإن هذه لا تتراكم بمستويات كافية حتى تعتبر وسائط لإنزيم PPO . فى نباتات Populus trenuloides يميل الكاتيكول للانفراد بواسطة هدم الجليكوسيدات الفينولية الوفيرة ومن ثم تكون موجودة أو متاحة كوسيط فى الأنسجة التالفة . مع معظم PPO's فإن الوسائط الداخلية غير معروفة . فائدة تعريف وسائط PPO فى النباتات وفهم النظام الشامل للكيمياء النباتية للنباتات التى تحتوى على PPO تم تأكيده بواسطة التقارير الحديثة عن الإنزيمات مثل PPO مع أدوار التخليق الحيوى كهيدروليزيس لنواتج التمثيل الثانوية (Nakayama et al., 2000 , Cho et al., 2003) .

لقد تمت دراسة PPO باستفاضة بواسطة البيولوجيون ورجالات الايكولوجي فى اتجاه ميكانيكيات الدفاع ضد الآفات والممرضات بناء على تفاعلات البنية Browning الناتجة من الكينونات المولدة لإنزيم PPO المتفاعل ومن ثم اقترح أن PPO فى الغالب يعمل للدفاع ضد الآفات والممرضات . من الأبحاث الأكثر إعجاباً تلك التى تناولت إلقاء الضوء عن فاعلية PPO تلك التى تحصل عليها من العمل على نباتات سولانوم بيرثالوتاى التى تحتوى على مستويات عالية من PPO (٤٥% من البروتين الذائب) والتى وجدت فى الأشواك العذبة . كسر الأشواك بواسطة الحشرات صغيرة الحجم مثل المنّ تؤدى إلى أكسدة سريعة تعال إنزيم PPO والبلمرة للفينولات . فى معظم الأنواع لو أن PPO وجد فى الأوراق وليس فى الأشواك ولكنه وجد فى خلايا الميزوفيل . فى هذا المقام فإن الكينونات الناشئة مع PPO اقترح أنها تؤلكل البروتين الغذائى خلال تغذية الحشرة وتهدم الأحماض الأمينية الضرورية فى معدة الحشرات . الكلة البروتين التى تعال بإنزيم PPO أتضح أنها تعمل ضد الآفات من حرشفية الأجنحة فى وجود الأكسجين وفى الأطعمة الصناعية والآن أصبحت محل دراسة مستفيضة فى سوائل المعدة .

٣- إنزيمات PPO والدفاع المحفز لآكلات النباتات فى الطماطم والنباتات الأخرى

فكرة أن إنزيمات PPO قد تعمل كدفاعات مضادة للتغذية ضد الحشرات آكلة الأوراق أقترحت بداية بواسطة G.Felton و S.Duffey واللذان أظهرا ارتباط عكسى بين نمو حشرة دودة الذرة ومستويات PPO فى نباتات الطماطم . التعضيد القوى للدور المناهض لآكلات الأوراق الخاص بإنزيم PPO أتت من الكشف بأن جزيئات الإشارات المحفزة للدفاع ضد آكلات الأوراق المسماة سيستيمين والمثيل جسمونات (Me JA) تحفز نشاط PPO ومستويات PPO mRNA فى أوراق الطماطم . السيستيمين عبارة عن ببتيد قصير للتأشير عن الجرح الجهازى فى الطماطم والتى تنظم الدفاعات بشدة ضد آكلات

الأوراق فى الطماطم . لذلك فإنه لن يكون هناك اعتبار للإشارة الجهازية الأولية حيث أنها مطلوبة لتوليد هذه الإشارة . لقد وجد أن PPO وغيره من الدفاعات تحفز بشدة بواسطة Me JA وحامض أوليجوجاك كتورونيك وهى مركبات تأشير الدفاع النباتى . حيث أن تحفيز PPO فى الطماطم يحدث بواسطة تأشير متعدد بالتوازى مع حزمة من البروتينات المضادة لآكلات الأوراق بما فيها الأنواع العديدة من مثبطات البروتييز (PIS) والإنزيمات المضادة للتغذية أرجينيز وثريونين دى امينيز (Bergey et al. 1996) والتى يعتقد أنها تلعب دوراً مشابها فى الدفاع ضد الحشرات.

فى الدخان فإن إنزيمات PPO والمثبطات PI's تنظم بشكل كبير بواسطة سيستيمن وكذلك بواسطة MeJA . على نفس المنوال أتضح حدوث تحفيز لإنزيمات PPO بواسطة آكلات الأوراق والجروح والمثيل جسمونات فى أوراق العديد من الأنواع النباتية الشائعة . هجين الحور به استجابة دفاعية قوية محفزة جهازية والتى تشمل كذلك مثبطات التربسين والكيتيز وكلاهما مع أنشطة مؤكدة مضادة للحشرة (Parsons et al., 1989) . التجارب الحديثة على الجينومات على المستوى الكبير سجلت بقلة تعقيد استجابة دفاع آكلات الأوراق فى هجين الحور والتى تتضمن تنظيم فائق فى العديد من جينات الدفاع الإضافية المزعومة . بشمول أدى التحفيز المرافق لإنزيمات PPO مع بروتينات الدفاع فى آكلات الأوراق فى العديد من الأنواع النباتية إلى تعضيد وظيفته فى مضادات آكلات العشب .

تحفيز PPO فى الطماطم بواسطة كلا الحشرات و Me JA تكررت فى دراسات معملية وحقلية (Stout et al., 1998) . بالإضافة إلى ذلك فإن العمل المبكر فى دراسات التنشيط العديدة فى الطماطم على PPO المحفز كان شاملاً وفى أنواع نباتية متنوعة . تحفيز PPO بواسطة الجروح أو المعاملة بالمثيل جسمونات تأكد فى نباتات أخرى بما فيها الحشائش والأشجار . تحفيز PPO بواسطة آكلات الأوراق أصبح واضحاً فى التنوع التقسيمى لمجموعة النباتات (جدول ٧-٣) وقد تم استقراء هذا التحفيز بشكل شائع على أنه استجابة مباشرة ضد آكلات الأوراق على العكس فإن دراسات التأثير القوى لإنزيم PPO المحفز ضد آكلات الأوراق أجرت مع مدى محدود فى النباتات وآكلات الأوراق بداية مع ديدان حرشفية الأجنحة على الطماطم والأنواع الأخرى فى الباذنجانيات (جدول ٧-٤) . نتائج ١١ تجربة من مجموع ١٦ تجربة أظهر أن تحفيز PPO يتوافق مع فرضية أن PPO المحفز يساهم فى الدفاع ضد آكلات الأوراق . كما هو الحال مع الدراسات المرتبطة فإنه من غير الممكن تحديد التأثير الخاص لإنزيم PPO المحفز على آكلات الأوراق بسبب التغيرات البيوكيميائية الأخرى التى تحدث فى النباتات التالفة . التأثيرات المباشرة لإنزيم PPO على آكلات النباتات الحشرية اختبرت بشكل أفضل

باستخدام النباتات المهندسة وراثياً حيث يحدث مناورة بمستويات PPO بشكل مستقل عن الصفات الأخرى .

جدول (٧-٣) : دراسات تحفيز PPO فى النباتات بواسطة آكلات النباتات مع تـــأثيرات غير معروفة عن آكلات النباتات .

Plant taxa	**Insect species (Order)**[1]	**Induction**	**Reference**
Solanaceae			
Tomato	*Leptinotarsa decemlineata (C)*	~ 2X	Felton (1992)
Potato	*L,decemlineata regurgitant*	~ 3 – 7X	Kuzmane et al.(2002)
Solanaceae			
Poplar (hybrid)	*Malacosoma disstria (L)*	~ 12X	Constabel et al(200)
Betulaceae			
Black alder	*Agelastica (C)*	~ 3X	Tscharnke et al(2000)
Poaceae			
Buffalograss	*Blissus occiduus (H)*	None	Heng-Moss et al . (2004
Barle , wheat , oats	*Diuraphis noxia (HO*	None	Ni et al . (2001)
Fabacea			
Common bean	*Melanoplus differentialis (O)*	~ 2X	Alba-Meraz and Choe (2002)
Soybean	*Helicoverpa zea (L)*	None	Bi and Felton (1995)
Soybean	*Ceratoma trifurcate (C)*	None	Felton et al . (1994)
Soybean	*Spissistilus festinus (H)*	1.6X	Felton et al . (1994)
Malvaceae			
Cotton	*Helicoverpa zea (L)*	Not detectab;e	Bi et al. (1997)
Theaceae			
Tea	*Helopeltis theivora (H)*	~ 2-3X	Chakraborty and Chakraborthy (2005)

[1]C – Coleoptera , L = Lepidoptera , H = Heteroptera , Ho = Homoptera , O = Orthoptera .

الدراسات الأخرى عن الارتباط بين نشاط PPO وأداء آكلات الأوراق النباتية باستخدام :

١- الطرز الوراثية التى تتفاوت فى المقاومة لآكلات الأوراق .

٢- التباين فى التطور الوجودى Onogentic الوراثى فى نشاط PPO داخل النبات.

٣- الأوراق المعاملة بإنزيم PPO أعطت نتائج متباينة .

الطرز الجينى فى البطاطس مع النشاط العالى لإنزيم PPO زادت من المقاومة ضد خنفساء كلورادو فى البطاطس بينما المقاومة لصانعات الأوراق فى البن لم تتأثر بشكل واضح بواسطة المستويات العالية من PPO فى أوراق البن . معدلات النمو النسبية ليرقات ديدان الذرة وجدت مرتبطة سالبياً مع مستويات PPO فى أوراق وثمار الطماطم (Felton et al., 1989) بينما يرقات Manuca quinquemaculata أظهرت أداء أكبر على أوراق الدخان الصغيرة والتى تحتوى على مستويات عالية من PPO . يرقات Lynantria dispar لم تتأثر بواسطة الزيادة ٨ أمثال فى مستويات PPO باستخدام PPO عيش الغراب على سطح الأوراق (Barbehenn et al., 2007) .

ارتباطات نشاط إنزيم PPO مع الدفاع تأكد بواسطة تعقيدات عائلات جين PPO . كمثال فإن جينوم الحور يحتوى على العديد من جينات PPO من ١٠ – ١٢ وحتى الآن لم تدرس سوى ثلاثة من جينات PPO . الجين Ptdpp1 يعبر عنه قصرياً فى الأوراق التالفة أو المضارة بينما الجينان Ptdpp02 , Ptdpp03 يعبر عنهما دوماً فى السيقان والبتلات أو الجذور . الجينان Ptdpp01 , Ptdpp02 قابلان للتحفيز ولكن فى الأنسجة المختلفة . التعبير الخاص لإنزيم PPO فى الأنسجة درس بعناية فى الطماطم حيث تم توصيف سبعة جينات للإنزيم بواسطة ستيفان ومعاونوه (Steffens et al., 1999) . فى دراسة رائعة استخدم فيها اندماجات GUS المحفزة والتهجين فى الداخل والموضعية المناعية تم وضع نظام للتعبير الخاص للنظام المعقد بين الخلية والنسيج . كل إنزيم PO أظهر تعبير متميز البروفيل ولكن واحد على الأقل من جين PPO أظهرت تعبير تكوينى لأى نسيج محدد . من المثير للاهتمام أن جين PPO – F فقط وجد يحفز بواسطة آكلات الأوراق . بالإضافة إلى سيستيمن و Me JA فإن الممرض وإشارات الإجهاد اللا حيوى مثل حامض السلسيليك والاثيلين وجد أنها تنظم PPO – F فى توافق مع الأدوار الإضافية لإنزيم PPO فى الممرض وغيرها من المقاومة مع الإجهادات الأخرى . بوجه عام فإن نظم التعبير المتنوعة لإنزيم PPO فى الطماطم والحور استجابة لكلا إشارات التطور

والإجهاد أوضحت أن PPO له وظائف إضافية ترتبط بالإجهاد فى الـــنظم أو المواقـــف المختلفة .

جدول (٧-٤) : تحفيز PPO في النباتات مع التأثيرات المختبرة ضد آكلات النباتات

Plant taxa	**Inducing agent (order)**[1]	**Induction**	**Effect**	**Herbivore**[1] **and response**[2]	**Reference**
Solanaceae					
Tomato	*Helicoverpa zea (L)*	~ 2X	(-)	*Spodoptera exigua (L) GR*	Stout et al.(1998)
Tomato	*Helicoverpa zea (L)*	~ 2X	(-)	*Spider mite (A) numbers*	Stout et al.(1998)
Tomato	*Jasmonic acid*	~ 3X	(0)	*Manduca sexta (L) RGR*	Thaler et al. (2002)
Tomato	*Jasmonic acid*	~ 3X	(-)	*Trichoplusia ni (L) RGR*	Thaler et al. (2002)
Tomato	*Jasmonic acid*	~ 3X	(-)	*Thrips (T) damage*	Thaler et al. (1999 , 2002)
Tomato	*Jasmonic acid*	~ 3X	(-)	*Spider mite (A) numbers*	Thaler et al. (2002)
Tomato (wild)	*Jasmonic acid*	~ 3X	(0)	*Spodoptera exigua (L) RGR*	Thaler et al. (2002)
Tomato	*Jasmonic acid*	~ 3X	(-)	*Spodoptera exigua (L) RGR*	Thaler et al. (1999)
Tomato	*Macrosiphum euphorbiae (H)*	Decrreased	(+)	*Spodoptera exigua (L) RGR*	Stout et al. (1998)
Tomato	*Wind stress*	Decrreased	(0)	*Manduca sexta (L) RGR*	Cipollini and Redman (1999)
Tomato	*Jasmonic acid*	~ 2X	(-)	*Manduca sexta (L) RGR*	Redman et al. (2001)
Tobacco (wild)	*Clipped sagebrush*	~ 4X	(-)	*Field damage by (L) and (0)*	Karban et al. (2000)
Potato (wild)	*High constitutive PO*	~ 4-7X	(-)	*Leptinotarsa decemlineata (C) RGR*	Castanera et al. (1996)

جدول (٧-٤) : تحفيز PPO فى النباتات مع التأثيرات المختبرة ضد آكلات النباتات					
Plant taxa	**Inducing agent (order)[1]**	**Induction**	**Effect**	**Herbivore[1] and response[2]**	**Reference**
Horsenettle	*High N fertilizer*	Decreased	(0)	*Monduca sexta (L) herbivory*	Cipollini et al. (2002)
Horsenettle	*High N fertilizer*	Decreased	(0)	*Epitrix sp. (C) herbivory*	Cipollini et al. (2002)
Betulaceae					
Montain birch	*Epirrita autunnata (L)*	~ 3X	(-)	*Epirrita autunnata (L) RGR*	Ruuhola and Yang (2006

[1]C = Coleoptera , L = Lepidopteraa , O = Orthoptera , T = Thysanoptera , A = Arachnida .

[2]GR = growth rate (mg / day) , RGR = relative growth rate (mg / mg / day).

٤ – بعض الوظائف الدفاعية لإنزيم PPO كما ظهرت فى نباتات الطماطم والحور المهندسة وراثياً

فى الطماطم والحور وجد أن تحفيز وتنظيم PPO فى الاستجابة الدفاعية لآكلات الأوراق توازياً مع العديد من جينات الدفاع المؤكدة يقدم دليل غير مباشر عن دوره فى الدفاع (بواسطة الارتباط) . هذا ولو أنه من الممكن أن PPO المحفز بواسطة آكلات الأوراق يساهم فى التئام الجروح والدفاع ضد مسببات الأمراض النباتية عما هو الحال مع الدفاع المباشر ضد الحشرات . تيسر PPO cDNAs من الأنواع النباتية العريضة سهلت وغرست هذا الاقتراب فى الأنواع الحساسة للتحول الوراثى . بناء على الاهتمام التجارى بدور PPO فى التحول للون البنى حيث أشارت العديد من الدراسات إلى خفض تضاد الحس الناجح لإنزيمات PPO فى درنات البطاطس وثمار التفاح . على العكس فإن التعبير الزائد لإنزيم PPO فى قصب السكر المعدل وراثياً أدى إلى إنتاج عصير غامق . هذا ولو أن النباتات المحورة مع PPO لم تستخدم لإثارة التساؤلات عن الوظائف الحيوية أو الدفاعات النباتية .

الأدوار الدفاعية لإنزيم PPO اختبرت لأول مرة بشكل مباشر مع نباتات الطماطم عظيمة التعبير مع PPO والتى أظهرت مواضع قليلة ومقاومة زائدة للممرض البكتيرى بسيدوموناس سيرنجيا بينما الطماطم منخفضة PP المعتاد للاحساس أظهرت حساسية أعلى (تضاعف بكتيرى ومواضع ضرر أكثر) . هذه النباتات تقدم أقوى تعضيد حتى الآن عن الدور الدفاعى لإنزيم PPO ضد الحشرات آكلات الأوراق . يرقات دودة اللوز

الأمريكية ودودة ورق القطن أظهرت تأثيرات سالبة عن النمو عندما تغذت على خطـوط نباتية منخفضة PPO . فى نباتات Populus المحورة وراثيا فإن التعبير الزائـد لجـين PPO المحفز فى الأوراق فى خطوط PPO لأشجار الحور سهلت التقييم الحيوى لإثبات أدوار PPO ضد الديدان التى تتغذى على الأشجار . هذه الدراسات أسفرت عـن نتـائج مختلطة . ديدان العمر الأول لحشرة Malacosona disstria خفضت من معدلات النمو على الحور ذات مستوى PPO المتزايد ولكن عندما أجريت التجارب فى الخريف يفترض أن يؤدى إلى خفض عنفوانية الديدان . على نفس المنوال فإن يرقات العمر الرابع لحشرة L.dispar انخفض معدلات نموها على الحور ذات الإنزيم PPO العالى فى الشتاء . يبدو أن التأثيرات القليلة والمتفاوتة للزيادات الكبيرة فى نشاط PPO فـى الحـور (٤ – ٤٠ ضعف زيادة) تجعل PPO المحفز وحده غير فعال فى الدفاع ضد هـذه الديـدان التـى تتغذى على الأشجار .

الاختلافات فى الفاعلية الظاهرة للتعبير الفائق لإنزيم PPO فى الطماطم فى مقابـل الحور قد ترجع لعوامل عديدة منها الحساسيات المختلفة للحشرات المختبـرة . الموضـع الخلوى الخاص لإنزيم PPO قد يكون هاماً كذلك حيث وجد فى الطماطم أن النسبة الكبيرة للتعبير الفائق لإنزيم PPO قبل الأكسدة للفينولات وتجنب البيئة قليلة الأكسجين فى المعدة. على نفس المنوال فإن الأكسدة السريعة للفينولات فى الطماطم قد تؤازر بواسـطة نقـص الكمون مع الطماطم ولكن ليس مع إنزيم الحور .

التعبير الفائق لإنزيم PPO فى الحور المحور وراثياً يعتبر وسـيلة مفيـدة لجـس النواحى الأخرى لإنزيم PPO مثل ثباته بعد التناول . بروتينات الدفاع تم التنبـؤ بثباتهـا النسبى فى الظروف القاسية فى نظم الهضم فى الحشرات واسترجاع كميات كبيـرة مـن PPO فى إخراج دودة الغابات التى تتغذى على الأوراق فى النباتات المهندسة وراثياً فى ثبات وتوافق مع هذا التوقع على عكس PPO المستخلص من الأوراق وقد وجد أن PPO فى مستخلصات البراز كانت كاملة النشاط . أظهر التحليل الاحصائى باستخدام PPO مع الأجسام المضادة الخاصة أن PPO فى البراز تهاجر عند وزن جزيئـى مـنخفض ممـا يوضح أن عملية التحلل المائى للبروتين عند الموضع المتميز تحدث فى المعدة . كما ذكر قبلا فإن PPO يلاحظ تكراريا بحيث تملك مواقع عمل لتحلـل البـروتين ذات الكربـون الطرفى . التاثيرات البيولوجية لنشاط PPO بواسطة إنزيمات المعدة غير واضحة ولكنها قد تؤثر على فاعليتها .

٥– نشاط PPO ضد الحشرات : ميكانيكيات الفعل والمحدودية

العديد من دراسات تحفيز إنزيم PPO بواسطة آكـلات النباتـات تعـضد وتـؤازر الاعتقاد العام بأن إنزيمات PPO's تلعب دوراً محورياً فى الدفاع ضد آكلات النباتـات .

ولو أنه منذ دراسات الباحث Felton ومعاونوه ١٩٨٩ ، ١٩٩٢ كانت هناك نـدرة فـى الدراسات المتعلقة بكيفية إحداث الفعل لإنزيمات PPO's التى يتم تناولها . لقد تم اقتـراح ثلاثة ميكانيكيات على الأقل التى عن طريقها تؤثر PPO على آكلات النباتات الحشرية :

١- PPO التى تولد الكينونات حيث تحدث الكلة للأحماض الأمينية الضرورية ممـا ينقص من الجودة الغذائية .

٢- دورة اختزال الكيتونات قد تنتج إجهاد تأكسدى فى بطانة المعدة .

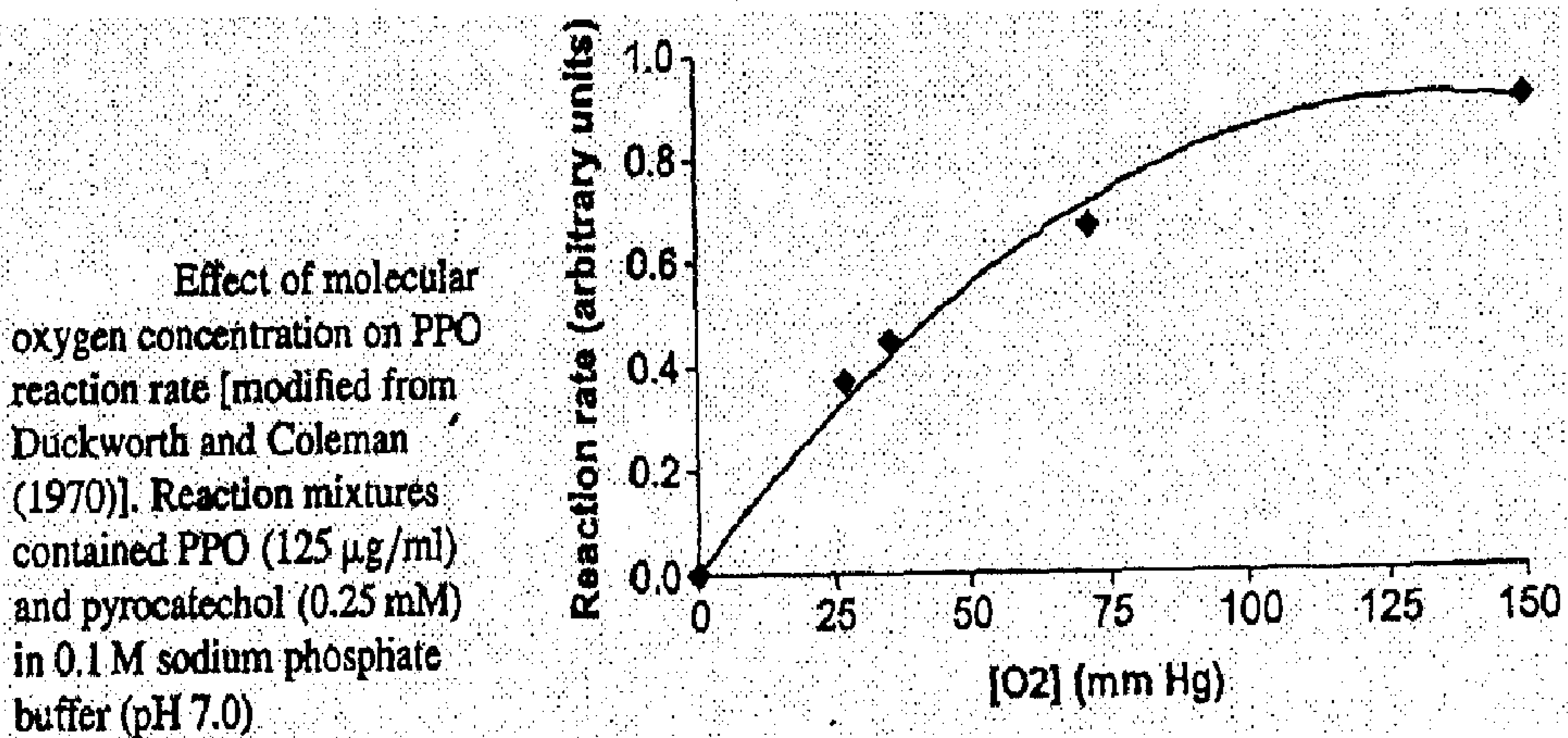
٣- نواتج أكسدة الفينولات مثل الكينونات وأنواع الأكسجين المتفاعل (فوق أكـسيد الايدروجين) الذى ينتج بواسطة دورة اختزال الكينون والذى يمـتص ويحـدث تأثيرات سامة على آكلات الأوراق .

الدراسات التى أجريت على هذه الميكانيكيات فى الحشرات آكلة النباتات سوف يـتم تلخيصه فى هذا المقام.

كما أتضح فى الأصل بواسطة Felton et al., (1989) وكذلك ١٩٩٢ من أن إنزيم PPO يستطيع الخفض المباشر لجودة البروتين فى الخارج عندما يتم تحضينه مع البروتين الغذائى وحمض الكلورجينيك مع وجود الأكسجين المحيط على درجة حموضة (٧) . الكلة الأحماض الأمينية الضرورية مع الكينونات تحت هذه الظروف تخفض بشكل كبيـر مـن أداء يرقات حرشفية الأجنحة وقد وجد أن أعلى من ٥٠% من حـامض الكلوروجينـسيك المعلم إشعاعياً مرتبط على البروتين فى براز اليرقات التى تغذت على أوراق الطمـاطم . البيئات ذات الحموضة العالية مثل المعدة فى حرشفية الأجنحة تـؤازر الكلـة البـروتين والعديد من الأحماض الأمينية الضرورية (ليسين – هستيدين – سيـستين – مثيـونين) وهى حساسة بوجه خاص لأكلة الكينون . تحت الظروف المناسبة لنـشاط PPO يكـون لهذا الإنزيم تأثير على جودة البروتين الغذائى . هذا ولو أن العوامل المحددة فى الجهـاز الهضمى للحشرات قد يكون مستويات منخفضة من الأكسجين ووجود مضادات الأكـسدة مثل الأسكوربات والجلوتاثيون . من التأثيرات المؤثرة الأخرى لإنزيم PPO هـو زيـادة إجهاد الأكسدة فى بطانة المعدة والتى فحصت حديثاً باستخدام أوراق الحور فائق التعبير . المستويات العالية من PPO ذات تأثير قليل على مستويات البروتينات المؤكسدة الملاحظة أو مستويات شارد السيمى كينون فى اثنين من أنواع الديدان التى تتغذى على الأشـجار . تغطية أقراص أوراق النبات بإنزيم PPO التجارى (التيروسينيز الفطرى) لم ينتج زيادة فى مستويات شارد السيمى كونيون . لقد أدت هذه النتائج إلى الاقتراح بحدوث زيادة قليلة فى تكوين الكينون بعد تناول مستويات عالية من PPO فى الحور على عكس التوقعـات المبنية على توقعات فلتون وآخرون (١٩٨٩ ، ١٩٩٢) والدراسات الـسابقة عـن دودة الغابات . على العكس أظهر الباحث Thipyapong ومعاونوه نقـص معـدلات النمـو

وخفض المقومات الغذائية لبعض ديدان حرشفية الأجنحة على خطـوط الطمـاطم فائقـة التعبير بإنزيم PPO في توافق مع ميكانيكية أو ميكانيكيات بعد التناول لنشاط إنزيم PPO. لا توجد أية معلومات متوفرة عن التأثير الكبير لإنزيم PPO على الإجهاد التأكسدى أو السمية على مستوى النسيج فى الحشرات .

نشاط أو فاعلية إنزيم PPO الذى يتم تناوله يعتمد على البيئة الكيميائية لمعدة الحشرة مثل مستويات الأكسجين والوسيط الفينـولي ووسـائل الاختـزال والمثبطـات ودرجـة الحموضة. من المدهش أنه لم تجرى سوى دراسات قليلة لتحديد كيف تـؤثر الظـروف الفسيولوجية الموجودة فى سوائل معدة الحشرة على تفاعلات PPO وتفـاعلات الـدفاع الأخرى . الوسائط الفينولية يجب أن توجد حتى يكون PPO فعالاً ولكن لسوء الطالع فإن هذه الوسائط لم تقدر ولكن افترض وجودها بمستويات كافية . على نفـس المنـوال فـإن الأكسجين الجزيئى مطلب أساسى مطلق لإنزيم PPO ونشاطه يتوقـف بواسـطة إزالـة الأكسجين من مخلوط التفاعل (الشكل ٧-٣) . من المؤكد أن محتويات معـدة الديـدان ونطاطات الأوراق تحتوى على تركيزات ثابتة من الأكسجين وفى بعض الأحيان تكون لا هوائية . قطرات الأكسجين من المستويات المحيطة ١٥٠ ملليمتر زئبق (٢١%) وحتـى ١٠ ملليمتر زئبق (١,٤%) على بعد مسافة ملليمترات عديدة فى المعى الأمامى لبعض الديدان . مستويات أكسجين المعى الأوسط من ٠,١ - ٠,٥ ملليمتر زئبق التى توجد فـى العديد من الأنواع ويتوقع أن تنقص أنشطة PPO لأقل من ١% من المعدلات القـصوى لإنزيم PPO عند مستويات الأكسجين المحيطة (الشكل ٧-٣) . بعض أنـواع الديـدان تحتوى على معى أمامى ضخمة بها مستويات أكسجين عالية عن المعدة الوسـطى . لقـد أتضح من دراسة على حشرة Lymantria dispar دليل ضعيف عن التأثير الشديد لإنزيم PPO . التيسر المحدود للأكسجين فى المعدة الوسطى للعديد من الحشرات يجب أن يظل فى الأذهان عندما يستخدم بروتينات منقاة أو أنسجة أوراق مهروسة لعمليـات النمذجـة الكيميائية داخل آكلات الأوراق . حيث يكون هناك تـأثير لإنـزيم PPO علـى آكـلات الأوراق فإنه يكون هناك جدل عن عوامل محددة فى كيفية إحداث الفعل قبل التناول .



Effect of molecular oxygen concentration on PPO reaction rate [modified from Duckworth and Coleman (1970)]. Reaction mixtures contained PPO (125 µg/ml) and pyrocatechol (0.25 mM) in 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.0)

شكل (٧-٣) : تأثير تركيز الأكسجين الجزيئى على معدل تفاعل إنزيم PPO . مخاليط التفاعل تحتوى PPO (١٢٥ ميكروجرام / ملليلتر) والبيروفاتيكول (٠,٢٥ ملليمول) فى ٠,١ مول فوسفات صوديوم المنظم (درجة الحموضة ٧) .

ولو أن درجة الحموضة الملائمة لإنزيمات PPO's واسعة الشيوع فإن نشاط وتفاعلية الكينونات مع الأحماض الأمينية فى الوسط الحامضى تقل بشكل كبير . لذلك خلص (Felton et al., 1992) أن إنزيمات PPO's غير فعالة ضد خنفساء كلورادو البطاطس بسبب درجة الحموضة المنخفضة (pH ٥,٥ – ٦,٥) فى المعى الأوسط للخنفساء . تمشياً مع هذا الاستنتاج لم يسجل نقص معنوى كبير فى مستويات أربعة أحماض أمينية ضرورية فى براز حشرة L.decemlineata التى تغذت على أوراق البطاطس من الأصناف ذات المستويات العالية من PPO (Castanera et al., 1996) . درجة حموضة النطاطات حامضية ولكننا لا نعرف عن الدراسات التى استهدفت إلقاء الضوء عن تأثيرات إنزيم PPO فى رتبة مستقيمة الأجنحة . درجة الحموضة العالية وجدت فى معدة حرشفية الأجنحة (pH ٩ – ١٠) ويتوقع أنها تنقص أنشطة إنزيم PPO الذى تم تناوله ولكن الظروف القاعدية تؤازر الكلة البروتين (Felton et al., 1989) .

لقد أدت الدراسات التى أجريت بواسطة علماء التغذية إلى تعريف العديد من مثبطات PPO التى تخفض من بنية الأطعمة المجهزة . من بين هذه المثبطات الأسكوربات محدودة الوجود فى الأوراق ولكنها توجد بمستويات عالية ويحدث له تناول مرافق مع PPO .

عندما توجد فى سائل المعى الأوسط أو مخاليط التفاعل فى الخارج In vitro بتركيز ٠,٢ – ٠,٥ ملليمول فإن الأسكوربات تستطيع الاختزال الكيميائى للكينونات وقواعد سيمى كينون ومن ثم تحد من فاعلية PPO كوسيلة دفاع تأكسدية . مستويات الأسكوربات فى سوائل المعى الأوسط للديدان التى تتغذى على الأشجار والتى تتغذى على الحور الرجراج والبلوط الأحمر والمجموع الخضرى لهجن الحور تكون عالية بدرجة كافية لمنع إنتاج الكينونات بواسطة إنزيم PPO (Barbehenn et al ., 2003 , 2007) . بالإضافة إلى ذلك فإن نظام تدوير الأسكوربات يعتبر مركزى للدفاعات الخاصة بمضادات الأكسدة للديدان التى تتغذى على الأشجار . هذا ولو أنه من غير المعروف ما إذا كانت الأسكوربات التى يتم تناولها بواسطة الديدان التى تتغذى على الطماطم مثل حرشفية الأجنحة تصان فى سوائل معدتها بمستويات كافية لتثبيط PPO .

الثيولات مثل الجلوتاثيون والسيستين تخفض كذلك من الإنتاج الصافى لكينونات بواسطة PPO وقد تثبط الإنزيم مباشرة (Negishi and Ozausa , 2000) . فى

الأوراق يصل تركيزات الجلوتاثيون تقريبا ٥% زيادة عن مستويات الأسكوربات ولكنه قد يتساوى مع مستويات الأسكوربات فى سوائل معدة الديدان جلوتـاثيون المعـى الأوسـط بتركيز ٥٠ – ١٠٠ ميكرومول فى الديدان التى تتغذى على الأشجار تكون عالية بما فيـه الكفاية من الناحية النظرية لتثبيط نشاط PPO (Nagai and Suzuki 2003) ولو أنـه من الواضح أن المستويات العالية من السيستين ضرورية لتثبيط PPO من بعض النباتات . مثبطات PPO القوية الأخرى تشمل الفينولات البسيطة والكويريسيتين (Nerya et al., 2004) .

٦- إنزيم PPO والدفاع ضد الممرض النباتى

دور إنزيم PPO فى الدفاع ضد مسببات الأمراض النباتية عرف منذ زمن بعيد بداية من البحوث التى تناولت هذا الإنزيم . لقد تم تعضيد هذه الفرضية بواسـطة العديـد مـن الدراسات المشتركة مثل التنظيم الفائق لإنزيم PPO فى النباتـات المـصابة بـالممرض (Mayer 2006) . الممرض الذى يحفز نشاط PPO مازالت محل اهتمام حيث تحـدث فى العديد من العائلات النباتية مثل وحيدة وثنائية الفلقات (Chen et al ., 2000) . على نفس المنوال فإن الدراسات التى تناولت وصف ارتباطات المستويات العالية من PPO فى الأصناف أو الخطوط النباتية مع المقاومة العالية للممرض مازالـت تعـضد حقيقـة دور PPO فى دفاع الممرض (Raj et al ., 2006) . لقد حاولت مجموعات عديـدة ربـط التأثيرات الواقية لبكتريا الريزوسفير مع تحفيز إنزيمات الدفاع بما فيها PPO مع خلـيط من النجاحات.

الدليل المباشر عن دور إنزيم PPO فى تثبيط دخول أو نمو الممرض أتى من نباتات الطماطم المحورة وراثياً مع زيادة أو خفض مستويات PPO . عندما تتعـرض النباتـات لتحدى أو هجوم الممرض البكتيرى بسيدوموناس سيرنجيا فى الطماطم فإن النباتـات ذات التعبير الفائق لإنزيم PPO أظهرت خفض فى النمو البكتيرى . هذه الدراسات هى الوحيدة التى تناولت الموضوع بشكل مباشر حتى الآن عن أهمية إنزيمات PPO فى الدفاع ضـد الممرض على النباتات . ما إذا كانت هذه الوظيفة تمتد لأنواع أخرى من الممرضات مثل الفطريات واجبة الدراسة أو درست فعلاً . فى الحور فإن العدوى بالفطر M-medusac لا تحفز PPO ولكنها تمثل تعبيرها مع العديد مـن جينـات دفـاع آكـلات النباتـات (Miranda et al ., 2002) .

البرهان على أن PPO يستطيع تثبيط الممرضات البكتيرية للنبات أدى إلى الاقتراح بأنه بالإضافة للتأثيرات على بعض آكلات النباتات فإن PPO مهم لتثبيط الميكروبات التى تصل للأوراق التالفة خلال أجزاء فم الحشرات المتغذية . هذه قد تكون بكتريـا انتهازيـة نفعية أو مرضية تنقل بواسطة حشرات خاصة ولو أنه لا يعرف إلا القليل عن أجزاء الفم

للكائنات الدقيقة الخاصة بالديدان وأجهزة الهضم . هذا معاكس لرؤية أن استجابات الدفاع للآفة والممرض حصرية . هذه الفرضية بنيت على دراسات مبكرة عن الطماطم والتي أوضحت أن حامض الساليسيلك وهو محفز قوى لدفاع الممرض والمقاومة الجهازية المكتسبة تثبط استجابة دفاع آكلات النباتات المحفزة بالجسمونات (Doares et al.,1999) النماذج الجارية لتأشير الدفاع تشير إلى مجموعة من الاستجابات المعقدة والمتداخلة تنظم بواسطة إشارات الجسمونات ، الاثيلين وحمض الساليسيلك مما يؤدى إلى العديد من المخرجات الممكنة . من الناحية الوظيفية فإن الحديث العبورى عضد بواسطة ملاحظة المقاومة المحفزة بآكل النباتات فى نبات الأرابيدوبسيس ضد الممرضات الميكروبية بما فيها P.syringae (De Vos et al., 2006) . فى الطماطم فإن الجين PPO –F يحفز خلال كلا الاستجابة للجرح والعدوى بالممرض P.syringae .

فى الوقت الراهن لا توجد ميكانيكية واضحة عن التأثيرات الكبيرة المضادة للممرض فى إنزيم PPO . لقد اقترح Li and Steffens (2002) احتمالات عديدة تتضمن :

١- سمية عالية للكينونات التى تنشأ بواسطة PPO للممرضات والخلايا النباتية والتعجيل بموت الخلايا.

٢- الكلة وتقليل تيسر البروتينات الخلوية للممرض .

٣- الارتباط الكينونات مع البروتين أو فينولات أخرى مما يكون حاجز للممرضات فى جدار الخلية .

٤- دورة اختزال الكينون تؤدى لتكوين فوق أكسيد الأيدروجين يد٢أ٢ وغيره من أنواع الأكسجين المتفاعلة .

بينما أنواع الأكسجين المتفاعلة معروف أهميتها كعوامل فى التداخلات فى الممرض النباتى وتأشير الدفاع وأن PPO تتضمن فى تكون البوليمرات المشابهة للميلانين فى مواضع التبقع الأسود فى البطاطس فإن أى من هذه الفرضيات عن كيف أن PPO يؤثر على الممرضات لم تدرس جيداً .

٧- الاستنتاجات واتجاهات المستقبل

ولو أن اقتراب الهندسة الوراثية أدى إلى الحصول على أدلة عن كفاءة إنزيم PPO المحفز كوسيلة دفاع ضد بعض آكلات النباتات من رتبة حرشفية الأجنحة فى بعض الحالات فإن ميكانيكيات الفعل ضد هذه الأعداء مازالت غير واضحة . التحليلات الأكثر تفصيلاً لكيمياء المعى الأوسط فى العديد من أنواع الحشرات التى تتغذى على مستويات عالية من PPO فى النباتات بدأت فى إثارة هذه التساؤلات . بوجه خاص فإن درجة ارتباط الكينون مع البروتين والأحماض الأمينية فى محتويات معدة آكلات الأوراق تحتاج

إلى الحدوث . استقراء دراسات التغذية سوف تؤازر بواسطة اختبار ليس مستويات PPO وأداء الحشرة فقط ولكن معدل الاستهلاك وجودة الغذاء من الناحيتين الغذائية والكيميائيـــة ومن ثم يمكن الكشف عن التغذية التعويضية أو الطرد أو منع التغذية . بالإضافة إلى ذلك فإن معلوماتنا عن تأثيرات PPO سوف تستفيد من زيادة الاهتمام بالوسائط الداخلية لإنزيم PPO أكثر منها مع الاستقراء البسيط من تخصصية الوسيط التى لوحظت فى الخـــارج . فى قليل من الحالات تم تعريف الوسائط المحتملة ومازالت الأنشطة البيوكيميائية للكينونات الناتجة بواسطة PPO تعتمد على التركيب الخاص . الدراسات الحديثة أظهر كثير منهـــا الأدوار الحقيقية لإنزيم PPO فى الدفاع . هذا ولو أنه توجد أدوار أخرى لهـــذا الإنـــزيم وكمثال فإن الإنزيم PPO المضاد للحس فى نباتات الطماطم يزيد من مقاومة الممـــرض وتحمل الجفاف وأن الإنزيمات مثل PPO تستطيع أن تعمـــل كإنزيمـــات تحلـــل مـــائى هيدروكسيليزيس فى التمثيل الثانوى .

References

Aydemir T, Akkanh G (2006) Partial purification and characterization of polyphenol oxidase from celery root (Apium graveolens L.) and the investigation of the effects on the enzyme activity of some inhibitors. Int J Food Sci Tech 41:1090-1098

Barbehenn RV, Bumgarner SL, Roosen E, Martin MM (2001) Anitoxidant defenses in caterpillars: role of the ascorbate recycling system in the midgut lumen. J Insect Physiol 47:349-357

Bi JL, Murphy JB, Felton GW (1997) Antinutritive and oxidative components as mechanisms of induced resistance in cotton to Helicoverpa zea. J Chem Ecol 23:97-117

Christopher ME, Miranda M, Major IT, Constabel CP (2004) Gene expression profiling of systemically wound-induced defenses in hyprid poplar. Planta 219:936-947

Cipollini DF, Redman AM (1999) Age-dependent effects of jasmonate acid treatment and wind exposure on foliar oxidase activity and insect resistance in tomato. J Chem Ecol 25:271-281

Constable CP, Ryan CA (1998) A survey of wound and methyl jasmonate-induced leaf polyphenol oxidase in crop plants. Phytochemistry 47:507-511

Devoto A, Turner JG (2005) Jasmonate-regulated Arabidopsis stress signaling network. Physiol Plant 123:161-172

Duckworth HW, Coleman JE (1970) Physicochemical and kinetic properties of mushroom tyrosinase. J Biol Chem 245:1613-1625

Felton GW, Summers CB, Mueller AJ (1994) Oxidative reponses in soybean foliage to herbivory by bean leaf beetle and three-cornered alfalfa hopper. J Chem Ecol 20:639-650

Gandia-Herrero F, Jimenez-Atienzar M, Cabanes J, Garcia-Carmona F, Escribano J (2005) Evidence for a common regulation in the activation of a polyphenol oxidase by trypsin and sodium dodecyl sulface. Boil Chem 386:601-607

Humphreys JM, Chapple C (2002) Rewriting the lignin roadmap. Curr Op Plant Biol 5:224-229

Hunt MD, Eannetta NT, Yu HF, Newman SM, Steffens JC (1993) cDNA cloning and expression of potato polyphenol oxidase. Plant Mol Biol 21:59-68

Jiang Y, Miles PW (1993) Generation of H_2O_2 during enzymatic oxidation of catechin. Phytochemistry 33:29-34

Jimenez M, Garcia-Carmona F (1999) Myricetin, an antioxidant flavonol, is a substrate of polyphenol oxidase. J Sci Food Agric 79:1993-2000

Kanade SR, Paul B, Rao AGA, Gowda LR (2006) The conformational state of polyphenol oxidase from field bean (Dolichlos lablah) upon SDS and acid-pH activation. Biochem J 395:551-562

Kruzmane D, Jankevica L, Ievinsh G (2002) Effect of regurgitant from Leptinotarsa decemlineata on wound responses in Solanum tuberosum and Phaseolus vulgaris. Physiol Plant 115:577-584

Li L, Steffens JC (2002) Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. Planta 215:239-247

Major IT, Constabel CP (2006) Molecular analysis of popular defense against herbivory. Comparison of wound and insect elicitor-induced gene expression. New Phytol 172:617-635

Melo GA, Shimizu MM, Mazzafera P (2006) Polyphenoloxidase activity in coffee leaves and its role in resistance against coffee leaf miner and coffee leaf rust. Phytochemistry 67:277-285

Nerya O, Musa R, Khatib S, Tamir S, Vaya J (2004) Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the effect of hydroxyl positions and numbers. Phytochemistry 65:1389-1395

Parsons TJ, Bradshow HD, Gordon MP (1989) Systemic accumulation of specific mRNAs in response to wounding in poplar trees. Proc Natl Acad Sci USA 86:7895-7899

Rathjen AH, Robinson SP (1992) Aberrant processing of polyphenol oxidase in a variegated grapevine mutant. Plant Physiol 99:1619-1625

Redman AM, Cipollini DF, Schultz JC (2001) Fitness costs of jasmonate acid-induced defense in tomato, Lycopersicon esculentum. Oecologia 126:380-385

Ryan CA (2000) The systemic signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. Biochem Biophys Acta 1477:112-121

Shin R, Froderman T, Flurkey WH (1997) Isolation and characterization of a mung bean leaf polyphenol oxidase. Phytochemistry 45:15-21

Stout MJ, Workman KV, Bostock RM, Duffey SS (1998) Specificity of induced resistance in the tomato, Lycopersicon esculentum. Oecologia 113:74-81

Thaler JS, Stout MJ, Karban R, Duffey SS (2001) Jasmonate-mediated induced plant resistance affects a community of herbivores. Ecol Entomol 26:312-324

Thipyapong P, Steffens JC (1997) Tomato polyphenol oxidase – Different response of the polyphenol oxidase F promoter to injuries and wound signals. Plant Physiol 115:409-418

Tscharntke , Thiessen S, Dolch R, Boland W (2001) Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in Alnus glutinosa. Biochem Syst Ecol 29:1025-1047

Van Gelder CWG, Flurkey WH, Wichers HJ (1997) Sequence and structural features of plant and fungal tyrosinases. Phytochemistry 45:1309-1323

Walker JRL, McCallion RF (1980) Selective inhibition of ortho-diphenol and para-diphenol oxidases. Phytochemistry 19:373-377

Yoruk R, Marshall MR (2003) Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. J Food Biochem 27:361-422

ثالثاً : فعل إنزيمات الدفاع النباتية فى المعى الأوسط فى الحشرة

Action of Plant Defensive Enzymes in the Insect Midgut. Hui Chen , Eliana Gonzales – Vigil and Gregg A. Howe

تغذية الحشرة نشط تعبير بروتينات دفاع النبات العائل والتى تحقق تأثيرات مباشـرة على المهاجمين . بالإضافة إلى مثبطات البروتييز التى درست جيداً فإن ترسانة بـروتين الدفاع النباتى تتضمن الإنزيمات التى تحدث خلل فى مختلف نواحى فسيولوجية الهضم فى الحشرات . فى هذا المقام سوف نلخص مخرجات الدراسات الحديثة عن الصور المشابهة للأرجينيز والثريونين دى أميينيز (TD) الذى يهـدم الأحمـاض الأمينيـة الـضرورية الأرجينية والثريونين على التوالى فى البيئة القلوية لمعدة حرشفية الأجنحة . سوف نناقش كذلك بروتين التخزين الخضرى (VSP2) والذى يكون فيه نشاط الفوسفاتيز مسئولاً عن التأثيرات الواضحة فى إبادة الحشرات ثنائية وغمدية الأجنحة . من الملامح الشائعة لكـل من VSP2 , TD ، الأرجينيز فى التعبير المحفز بالجروح لها من خلال مـسار تأشـير الجسمونات . إنزيمات الدفاع التى تنظم بالجسمونات تنشأ من الإنزيمات المحفوظة التـى وجدت قبلاً لهدم المواد المغذية الضرورية تمثيلياً خلال التطور العادى للنبات . اسـتخدام الاقترابات التى تعتمد على البروتين Proteomics لتعريف البروتينات النباتية فى القنـاة الهضمية للحشرات ملتهمة النباتات تسهل اكتشاف بروتينات نباتية صـغيرة ذات نـشاط ابادى على الحشرات .

G.A. Howe

DOE Plant Research Laboratory , Michigan State University , East Lansing , MI 48824 , USA .

e-mail : howeg@mus.edu

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistane to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008 .

١- المقدمة

النمو المثالى لآكلات النباتات الحشرية تعتمد على قدرتها لاكتساب الأحماض الأمينية من البروتين الغذائى . على غرار الحيوانات الأخرى فإن الحشرات آكلة الأوراق تتطلـب الأحماض الأمينية الضرورية الأرجينين والثريونية والأيزوليوسين والليسين والهـستيدين والمثيونين والفينيل الانين والتربتوفان والفالين (Chang , 2004) . المحتوى القليل مـن البروتين فى النسيج النباتى يملك تحدى كبير للحشرات التى تتطلب هذه المغذيات حيث أن البروتين يمثل كلا المواد المغذية الكبرى والعامل الغذائى المحدد الأكثـر شـيوعاً لنمـو

الحشرة . الجزء الأكبر من الدليل أوضح أن العديد من مركبات الدفاع النباتية تتلف أداء آكل النباتات بواسطة تقييد تيسر الأحماض الأمينية والمغذيات الأخرى المشتقة من النباتات. الكثير من هذه الدراسات المرجعية التى تتعلق بنواتج التمثيل الثانوية مثل التانينات والراتنجات الفينولية التى تتداخل مع هضم البروتين الغذائى (Feeny , 1976) ذكرت .

النباتات الراقية كذلك تنتج أنواع من البروتينات التى تحدث خلل فى اكتساب الحمض الأمينى وغيرها من النواحى فى فسيولوجى الهضم فى الحشرات . مثبطات البروتينيز (PIS) وصفت بداية بواسطة Ryan ومعاونوه وهى تعتبر أفضل الأمثلة عن هذا النوع من الدفاع بعد التناول . بمجرد استهلاك نسيج النبات بواسطة آكل النبات ترتبط PIs وتثبط بروتيزيس الهضم فى الغشاء المبطن للمعدة . التأثير السالب لمثبطات PIs على نمو آكل النبات تنتج من استجابة التعويض بواسطة الحشرة للإنتاج الفائق لبروتينيز الهضم . هذه بدورها تستنزف حزمة الأحماض الأمينية الضرورية . بسبب أن المثبطات PIs ليست هادمة فإن قدرتها على إعاقة نمو الحشرة تعتمد على التراكم لتركيزات عالية نسبياً فى الجهاز الهضمى . إنزيمات النبات لها مقدرة لإحداث تأثيرات دفاعية مع التركيزات المنخفضة كثيراً . لقد لاقت هذه الفكرة قليل من الاهتمام حتى وقت قريب . البحوث على الإنزيمات النباتية التى تعمل ولها دور بعد التناول فى الدفاع ركزت أساساً على البولى فينول اكسيديز وغيرها من إنزيمات الأكسدة التى تحور بروتين الغذاء تكافؤياً ومن ثم تتلف هضم الغذاء النباتى . إنزيمات الدفاع الأخرى تتضمن سيستين بروتيزيس والمكونات التركيبية المستهدفة لجهاز الهضم فى الحشرات . الدليل الجامع يوضح أن الإنزيمات النباتية تلعب دوراً حيوياً فى الدفاع ضد الحشرات ويوسع رؤية أن نواتج التمثيل الثانوية هى العامل المحور الأكبر لانتخاب النبات العائل بواسطة الحشرات (Fraenkel , 1959).

البروتينات النباتية التى تلعب دوراً فى الدفاع بعد التناول تخلق بالضبط استجابة للجروح وهجوم آكلات الأوراق . هذا التوجه المحورى للمقاومة المحفزة سجل منذ أكثر من ٣٥ عاماً مضت بواسطة العمل الرائد عن مثبطات PI's السيرين فى البطاطس والطماطم (Green and Ryan 1972) . التعبير المحفز لمثبطات PI's وغيره من البروتينات المرتبطة بالدفاع يتحكم فى جزء كبير منها بواسطة مسار التأشير بالجسمونات (Walling , 2000) . البحوث الحديثة عن العمليات المؤشرة بالجسمونات توضح بأن الإنزيمات التى كان يعتقد فى السابق أنها تشترك فى التمثيل الأولى تلعب دوراً هاماً فى الدفاع بعد التناول . فى هذا المقام سنحاول تلخيص المخرجات الحديثة عن اثنين من الإنزيمات التى تنظم بالجسمونات وهما الأرجينيز والتريونين دى أمينيز (TD) واللذان عندهما المقدرة على هدم الأحماض الأمينية الضرورية فى معدة حشرات حرشفية

الأجنحة. كذلك سنناقش دور البروتين المخزنة فى المجموع الخضرى والتى تنظم بالجسمونات ضد آكلات الأوراق الحشرية .

٢- الأرجينيز Arginase

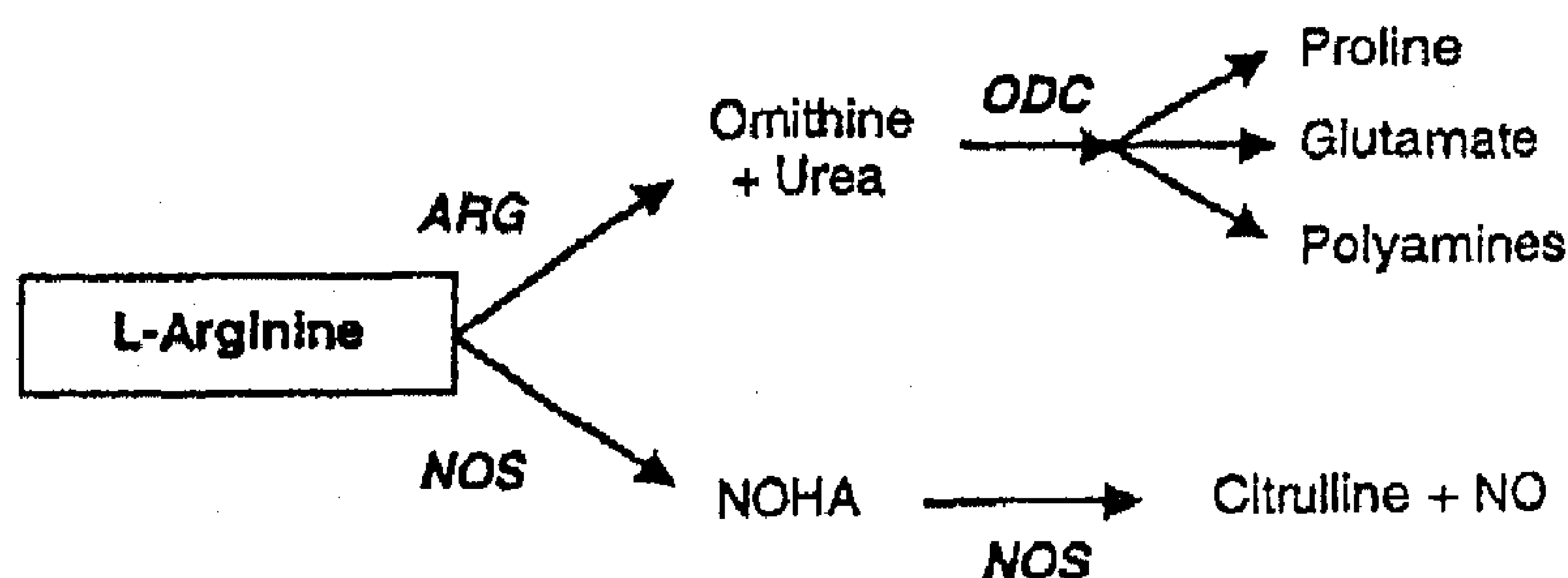
الأرجينين L. arginine (Arg) واحد من أكثر الأحماض الأمينية انتشاراً وظيفياً فى الخلايا الحية . بالإضافة لكونها حجر الأساس لبناء البروتينات فإن Arg يعتبر البادىء لتخليق الأمينات العديدة والبرولين وكذلك جزئيات تأشير الخلايا جلوتامات ، جاما – أمينوبيوتيريك آسيد وأكسيد النتريك (NO ، الشكل ٧-٤) اثنان من أكثر مسارات تمثيل Arg التى درست تضمنت الأرجنينيز و NO سينسيز (NOS) . الأرجينيز (L.arginine amidino hydrolase أو EC3.5.3.1) عبارة عن ثنائى النواة منجنيز ميتالو إنزيم يحلل الأرجنين مائياً إلى يوريا وأورنيثين والأخير بادىء للتخليق الحيوى للبولى أمين . فى النظم الحيوانية فإن التعبير الزائد للأرجينيز ينشط إنتاج البولى أمينات التى تحفز تكبير الخلية والتئام الجروح (Satriano 2004) على عكس التأثيرات المحفزة للنمو للبولى أمينات فإن التأثيرات الخلوية الثابتة Cytostatic للـ NO التى تنتج بواسطة الملتهمات المنشطة . التحول بين الأرجينيز وفروع NOS لتمثيل الأرجينن يسيطر عليه بواسطة تأشير مختلف ومسارات تمثيل التى تنظم تيسر الأرجينين . بسبب أن الأرجينيز و NOS يتنافسان على الوسيط الشائع (الشكل ٧-٤) فإن زيادة تعبير الأرجينيز يمكن أن يثبط بشكل فعال مسار NOS . العديد من الممرضات الحيوانية كمثال تحفز تعبير الأرجينيز كوسائل لتجنب دفاعات العائل التى تعال بواسطة NO .

لا يعرف إلا القليل جداً عن الفعل الفسيولوجى لأرجينيز النبات . هناك مطلب مسبق قبل أن يثار هذا السؤال يتمثل فى التعريف الموثوق به عن جينات النبات التى تشفر الأرجينيز . بسبب أن التتابع المتنبأ به لأرجينيز النبات أكثر تشابها للأجماتينيز عما هو الحال مع الأرجينيزيس القياسية من الفقاريات والفطريات والبكتريا وقد اقترح بعض البحاث أن جينات النبات التى تعمل كأرجينيز قد تشفر الأجماتينيز أو أميدينوهيدوليز المرتبط . الدراسات الحديثة على الأرجينزيس من الطماطم المزروعة ساعدت فى حل هذا التوجه . جينوم الطماطم يحتوى على جينان أرجنيز يشار إليهما ARG1, ARG 2 (Chen et al.,2004) . لقد تنبأ بأن كلا الجينان يشفرا البروتينات ذات ٣٣٨ حمض أمينى وهى متطابقة مع بعضها البعض بنسبة ٩٨% . دراسات التعبير غير المتجانس أظهرت أن كلا الإنزيمات ذات خصائص بيوكيميائية متشابهة بما فيها التخصص العالى الظاهرية للارجينين حوالى ٣٠ ملليمول لكل مشابهات الإنزيمات Km . Argللارجينين للارجينيزيس المقاومة من مختلف الأنسجة النباتية . أظهرت Kmوالتى تتوافق مع قيم بالرغم من تشابه تتابعهما مع الأجماتينيز والتميز الوراثى ARG 1,2هذه الدراسات أن

النباتي من الأرجينيزيس اللا نباتي فإنه عبارة عن إنزيمات أرجينيزيس حقيقية (Chen et al ., 204).

لقد تحصل على رؤى إضافية عن وظيفة الأرجينيز النباتي بواسطة تحليل نظام التعبير الخاص للإنزيم أو الإنزيمات في النسيج . جينات ARG1 , ARG 2 كمثال تعبر عن مستوياتها الأعلى في أنسجة التكاثر . هذه الملاحظة تتفق مع الدراسات السابقة التي توضح أن مبايض الطماطم والثمار غير الناضجة تحتوي على مستويات عالية نسبياً من نشاط الأرجينيز (Alabadi et al., 1996) . البحوث على فول الصويا أظهرت أن الأرجينيز قد يشترك في تحريك الأرجينين خلال مرحلة البادرات المبكرة . الإشارة الأولى بأن الأرجينيز له دور في دفاع النبات تأتي من الملاحظة بان تعبير الجين ARG2 في الطماطم (وليس ARG1) يحفز بشكل كبير في الأنسجة الخضرية استجابة للجروح الميكانيكية والمعاملة بالمثيل جسمونات التعبير المحفز للجين ARG 2 كان مصحوباً بالزيادة في نشاط الأرجينيز ويمحى في الطفرة غير الحساسة لحمض الجسمونيك ١ Jai) (1 التي ترتد في مسار تأشير الجسمونات (Li et al., 2004) . غياب التعبير للجين

ARG2 في نباتات Jai 1 أدت إلى الاقتراح بأن هذه الصورة الأيزوليست ضرورية للنمو والتطور العادي للنباتات العادية .



شكل (٧-٤) : تمثيل الأرجينين في النباتات الراقية . الأرجينين يعمل كوسيط لكلا الأرجينيز (ARG) ونتريك أكسيد سينسيز (NOS) . NOS تساعد على تخليق أكسيد النتريك (NO) بواسطة خطوتين تفاعل متضمنة وسيط ن – هيدروكسي – أرجينين (NOHA) . تمثيل الأرجينين عبر أرجينيز – أورنيثين ديكربوكسيليز (ODC) وهي المسارات التي تكون البرولين والجلوتامات والبولي أمينات البسيطة . الأرجينين تمثل كذلك بواسطة أرجينين ديكربوكسيليز إلى الأجماتين (غير موضحة بالشكل) والتي تستخدم كذلك كبادىء لتخليق البولي أمين .

من الصفات غير العادية لأرجينيز النبات ما يتمثل فى مقدرته على تمثيل الأرجينين عند درجة حموضة عالية . لقد وجد أن درجة pH الملائمة لجين ARG2 فى الطماطم تساوى حوالى ٩,٧ مع قليل أو عدم وجود نشاط على درجة الحموضة ٧ (الشكل ٧-٥). اعتماد نشاط ARG2 على درجة الحموضة العالية مما أدى إلى بروز الفكرة أن الإنزيم بعد تراكم من جراء التحفيز بالجروح فى أوراق الطماطم تعمل فى الوسط القلوى للمعدة فى حشرات حرشفية الأجنحة وتتغذى على أوراق الطماطم مع استنزاف المتاح من الأرجينين للامتصاص فى الأمعاء والأرجينيز قد يقلل من الجودة الغذائية لغذاء النبات . هذه الفرضية تتمشى مع اقتراح Broadway and Guffey (1988) بأن خفض تيسر الأحماض الأمينية الأساسية (مثل الأرجينين والليسين) يزيد من سمية المثبط PI's . هناك عديد من الأدلة التى تعضد دور الأرجينيز فى الدفاع ما بعد التناول بداية فإن Jai 1 الطفرية النبات التى تفشل فى التعبير عن جين ARG2 تشترك فى الدفاع ضد هجوم آكلات النباتات . ثانياً فإن محتوى معدة يرقات الديدان ذات القرون (ماندوكاسيكتا) التى ربيت على الأوراق من نباتات الطماطم المحفزة تحتوى مستويات عالية من نشاط الجين ARG2 . فى النهاية فإن نشاط الأرجينيز الزيادة فى مستخلصات المعدة ترتبط بالمستويات القليلة من الأرجيينين الحر فى نفس المستخلص . (Chen et 1., 2005) . هذه النتائج توضح أن ARG2 المنظم بواسطة JA فى أوراق الطماطم يكون نشط فى الجهاز الهضمى حيث يحدث هدم للأرجينين . M.sexte

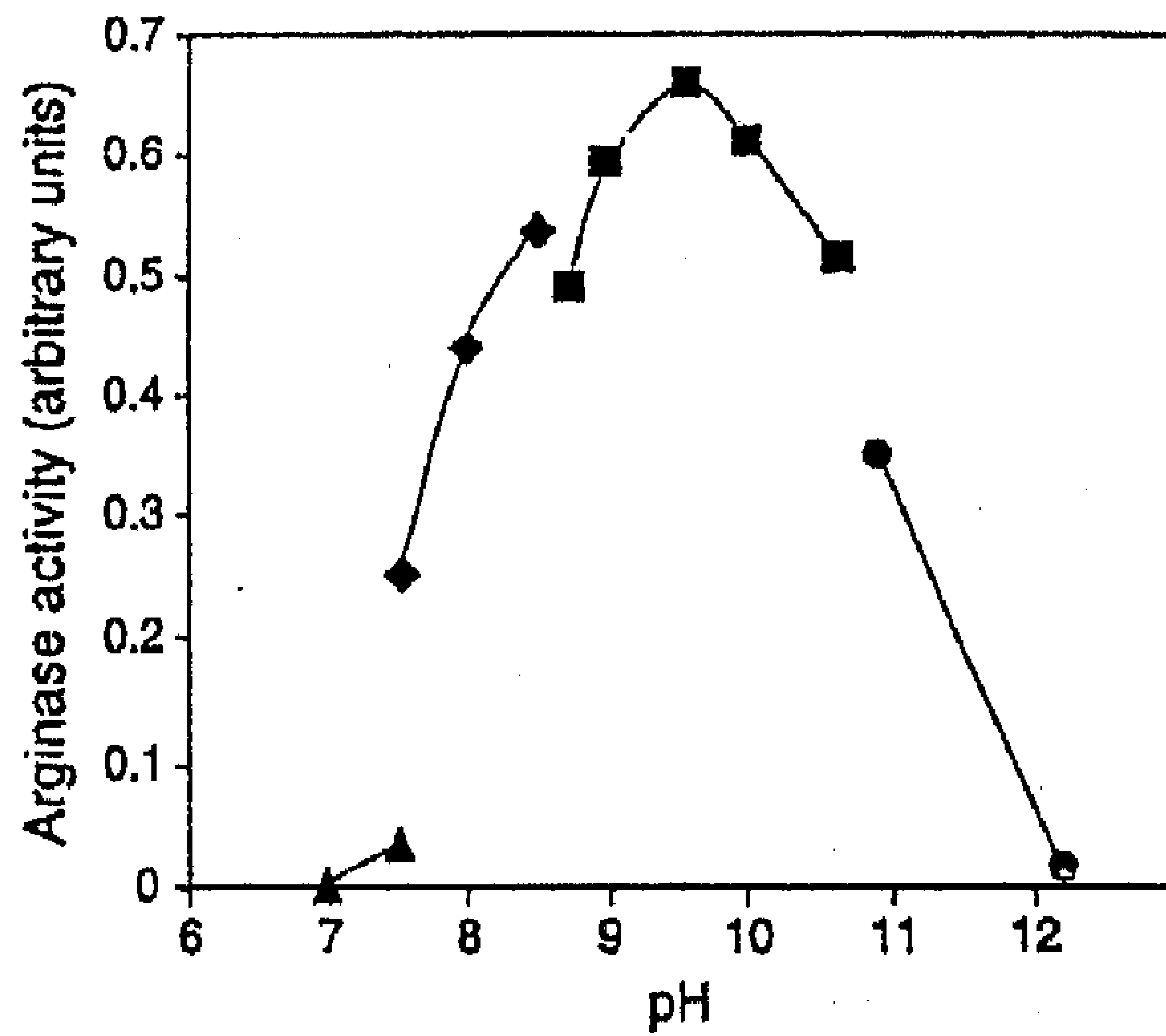
لقد استخدمت الهندسة الوراثية لتقدير ما إذا كان زيادة تعبير أرجينيز الأوراق كافياً لخفض أداء الديدان . نبات الطماطم المتحولة وراثياً التى يعبر فيها بشكل فائق جين ARG2 , DNA تحت سيطرة محفز فيروس موزايك القرنبيط 355 (Ca MV) تم خلقها بواسطة التحول المعال بواسطة الأجروباكتيريوم . المستوى التكوينى لنشاط الأرجينيز فى الأوراق السليمة لخطوط الانتخاب ARG2 : 355 زاد بشكل بعيد عما هو الحال مع الأوراق البرية المضارة والتالفة بالجروح . النشاط العالى للأرجينيز فى هذه النباتات لا تظهر فى طرز فينولوجية مورفولوجية أو فى التكاثر ولا تغير بشكل كبير مستوى الأرجينين الحر فى الأوراق ARG2 : 355 . لقد أجريت تجارب تغذية مع خطوط مستقلة ARG2 : 355 وأظهرت أن متوسط وزن اليرقات النامية على النباتات المهندسة وراثياً أقل بشكل كبير عما هو الحال مع متوسط الوزن لليرقات التى ربيت على النباتات البرية . أظهرت هذه التحاليل الحيوية كذلك أن اليرقات تستهلك أوراق أكثر من النباتات البرية مقارنة من نباتات ARG2 : 355 . نشاط الأرجينيز فى مستخلصات المعدة من اليرقات المرباة على النباتات المهندسة وراثياً ARG2 : 355 كان أكبر كثيراً عما هو الحال مع اليرقات التى ربيت على النوع البرى وكان هذا النشاط مرتبطاً

بالمستويات المنخفضة من أرجينين المعدة . لذلك فإن تناول أرجينيز الأوراق بواسطة يرقات M.sexte أدت إلى استنزاف أرجينين المعدة وتقليل نمو اليرقات .

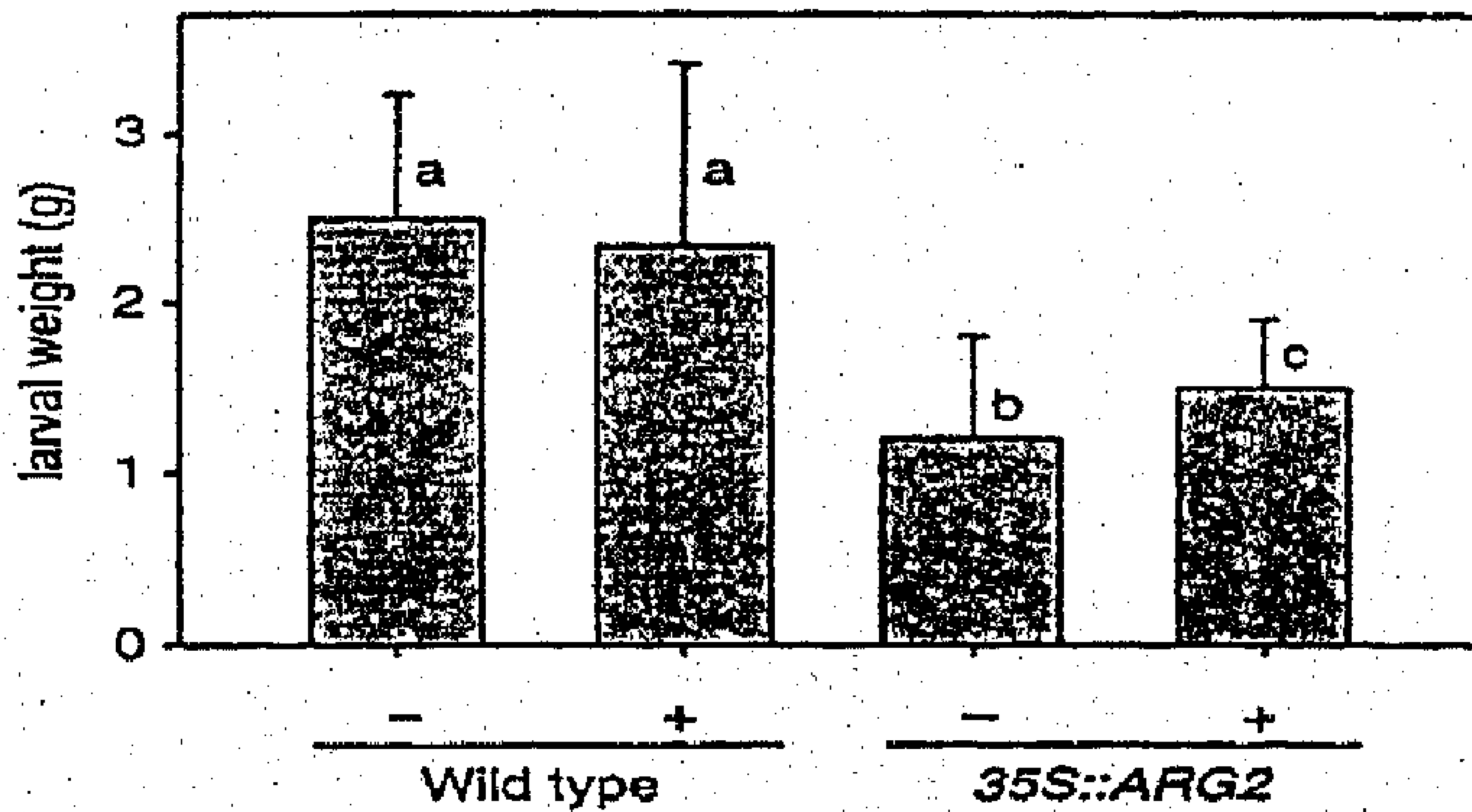
لاختيار فرضية أن خفض نمو الحشرة M.sexta على نباتات ARG2 : 355 ما هى إلا تتابع مباشر لنقص الأرجينين فى الغذاء أجريت تجارب تغذية مع النباتات التى تم رشها بمحلول ١ ملليمول من الأرجينين (الشكل ٧-٦) . هذه المعاملة لم تؤثر على أداء اليرقات على النباتات البرية مما أدى إلى الاقتراح بأن الأرجينين الحر ليس هو العامل المحددة لنمو الحشرة على هذا العائل . هذا ولو أنه لوحظ حدوث تحسن ملحوظ فى نمو اليرقات على النباتات المتحولة ARG2 : 355 بالمقارنة بنفس الطرز الوراثى المعاملة بالمقارنة الخادعة . مقدرة الأرجينين الخارجى على تحرير خفض نمو يرقات M.sexta على النباتات المتحولة وراثياً ARG2 : 355 تعضد فرضية أن الأرجينين عامل غذائى

محدد لنمو الحشرة على هذا الخط من النباتات . هذه النتائج متوافقة كذلك مع ملاحظة أن تيسر الأرجينين المختزل فى الغذاء يزيد من سمية مثبطات PI's . بسبب أن اليرقة تربى على النباتات المتحولة وراثياً بإضافة الأرجينين يكون وزنها أقل بشكل كبير عن الحشرات النامية على النباتات البرية (شكل ٧-٦) يكون فى الإمكان أن الدور الدفاعى للارجينيز يتضمن ميكانيكيات بالإضافة إلى استنزاف الأرجينين .

pH optimum of tomato arginase2. A hexahistidine-tagged derivative of tomato arginase2 was expressed in *E. coli* and purified by nickel-affinity chromatography (Chen et al. 2004). The recombinant enzyme was assayed for arginase activity in buffer systems (K-PO_4, triangles; Tris, diamonds; glycine, squares; K-PO_4, circles) adjusted to the indicated pH



شكل (٧-٥) : درجة الحموضة المناسبة للارجينيز -C فى الطماطم . -A هى مشتق هكساهيستيدين المعمل فى أرجنيز -C فى الطماطم حيث تم التعبير عنه فى بكتريا E.Coli والمنقى بواسطة الكروماتوجرافى مع النيكل . الإنزيم المعاد اندماجه تم تحليله للكشف عن نشاط الأرجينيز فى نظم المحاليل المنظمة (K-po4- المثلثات ، Tris ، دياموند ، جليسين – المربعات ، Kpo4 – الدوائر) مضبوطة عند درجة الحموضة pH الموضحة .



شكل (٧-٦) : الأرجينين الخارجى يحرر جزئياً النمــو المــنخفض ليرقـــات M.sexta المرباة على النباتات المتحولـــة وراثيـــا 355 : ARG2 . النباتـــات التـــى أظهرت طرز جينى تم رشها بـــالأرجينين بتركيـــز ١٠ ملليمـــول (+) أو بالمقارنة الخادعة (–) قبل الإصابة باليرقات حديثة الفقس . تم تحديـــد وزن اليرقات بعد ١٠ أيام من بدء التغذية . أظهرت النتـــائج متوســـط والخطـــأ التجريبى لعدد ٢٣ يرقة على الأقل لكل طرز وراثى عائل . الحروف مـــع الانخفاض تشير إلى اختلافات معنوية على P < 0.05 .

٣- ثريونين دى أمينيز Threonine deaminase (TD)

ثريونين دى أمينيز (Ec 4.2.1.16) يعرف كذلك بالثريونين ديهيدراتيز أو ثريونين أمونيا – لييز وهو إنزيم يعتمد على بيريدوكسال فوسفات الذى يـــساعد فـــي فقـــد المـــاء للمركب L.theronine إلى الفا – كيتوبيوتيرات والأمونيا . هـــذا ولـــو أن إنـــزيم TD يستطيع استخدام L – سيرين كوسيط لإنتاج البيروفات والأمونيا . الثريونين يعتبر بوجـــه عام الوسيط المفضل . العديد من الكائنات الدقيقة تملك صور متميزة تخليقية وهدمية مـــن إنزيم (TD).

إنزيم التخليق يساعد خطوة تخليق Ile ويرجع بعد ذلك ليثبط بواسطة Ile . إنـــزيم TD's المخلق حيويـــا مـــن البكتريـــا درس باستفاضـــة كنمـــوذج لتثبـــيط Allosteric (Umbarger , 1956) . إنزيمات TD's الهادمة تشترك فى الهدم اللا هوائى للثريـــونين إلى بروبيونـــات وهى غير حساسة إلى Ile النباتات الراقية تملك نـــوع مـــن إنـــزيم TD المخلق حيوياً حيث أن تركيبه ووظيفته وتنظيمه بواسطة Ile مشابه جـــداً لإنـــزيم TD's البكتيرية (Mourad and King 1995) . لقد تأكد هذا الاســـتنتاج بواســـطة الكلونـــة الجزيئية وتحليل الجينات التى تشفر TD من النباتات العديدة بما فيها البطاطس والطماطم

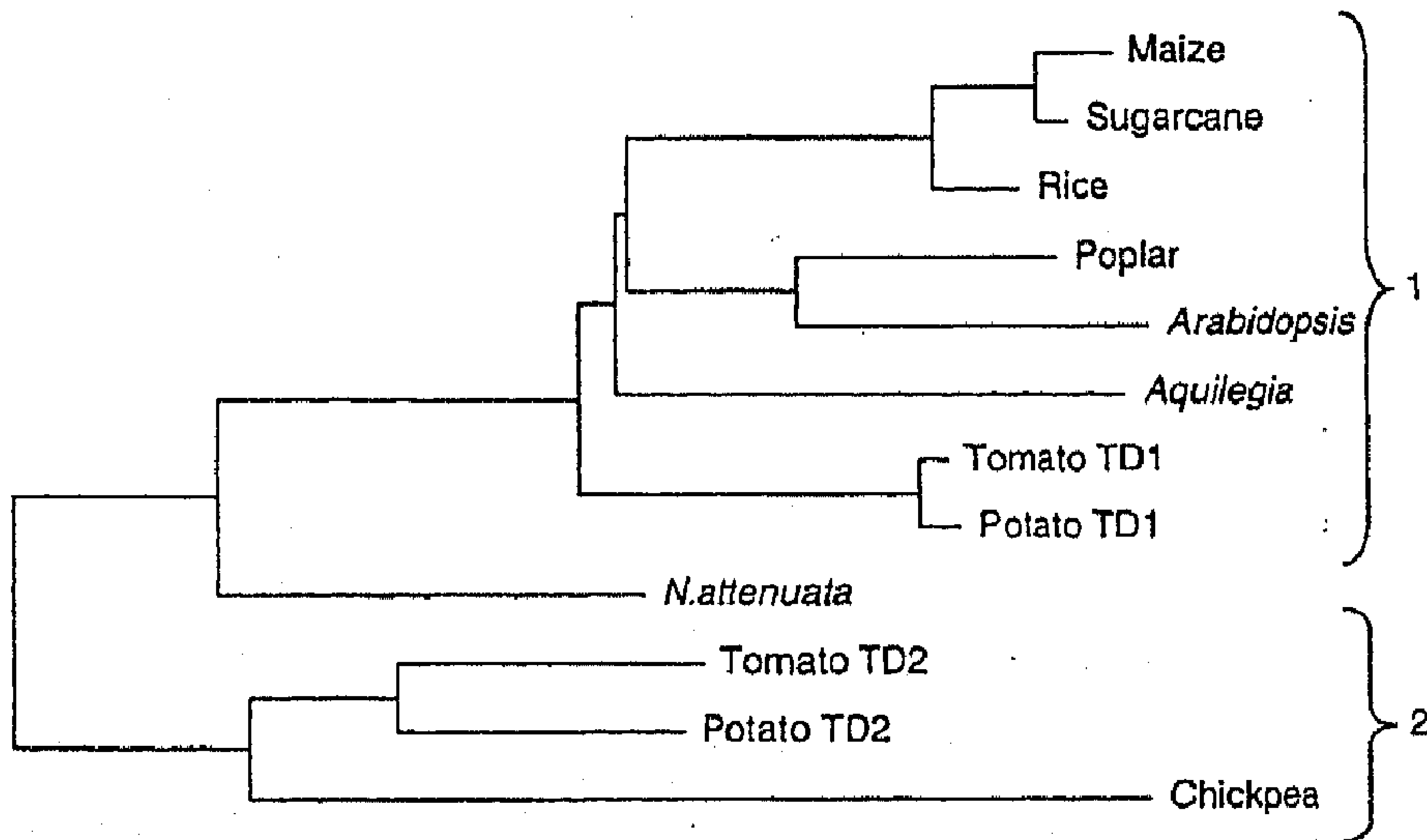
والبسلة ونباتات أرابيدوبسيس والدخان المتوطن . الأهمية الفسيولوجية لإنزيم TD فى نمو وتطور النباتات تأكدت من دراسات على الطفرات التى تفتقر إلى TD من N.plumbaginifolia و N. attenuate. ولو أن نشاط TD غير الحساس إلى Ile تم وصفه فى أوراق الطماطم الحساسة والأنسجة النباتية الأخرى إلا أن الجينات التى تشفر إنزيم الهدم لم تعرف بعد فى النباتات .

الدليل الأول بأن إنزيم TD المخلق حيويا قد يكون له دور فى الدفاع تحصل عليه من دراسات Hildmann et al., (1992) والتى أوضحت أن الجين TD فى البطاطس يعبر عنه بشدة فى الاستجابة للجروح الميكانيكية أو المعاملة بالهورمونات النباتية حامض الأبسيسيك (ABA) والمثيل جسمونات (MeJA) أظهرت الدراسات المتتابعة أن التعبير بإنزيم TD فى أوراق الطماطم والدخان تحفز كذلك بواسطة مسار تأشير الجسمونات استجابة للجروح وهجوم آكلات النباتات . فى أنواع العائلة الباذنجانية يعبر عن إنزيم TD التكوينى إلى مستويات عالية فى أعضاء التكاثر (Kang and Baldwin 2006) . فى الحقيقة فإن TD هو البروتين الأكثر وفرة فى أزهار الطماطم (Samach et al., 1991) . النظام الشامل لتعبير TD فى الأنسجة الخضرية والتكاثر متشابه جداً مع مثبطات PI's وغيره من البروتينات المحفزة بالجسمونات التى تلعب دوراً فى الدفاع ضد الحشرات . ظاهرة تعبير إنزيم TD المحفز بالإجهاد سجلت مع نباتات بخلاف العائلة الباذنجانية .

أوضحت الدراسات الحديثة فى معامل كاتب هذا الجزء أن الطماطم تملك جينان لإنزيم TD (يشار إليهما SITD1 , SITD2) التى لها أدواراً متميزة فى نمو وتطور النباتات . TD1 يعبر عنه تكوينياً فى جميع الأنسجة بينما TD2 يعتمد تعبيره على مسار تأشير الجسمونات السليم (Li et al., 2004) تتابعات عناقيد TD النباتية تحدث فى مجموعتين كبيرتين للوراثة النباتية (الشكل ٧-٧) . تتابع SITD2 مشابه كثيراً لتتابعات TD3 من الأرز والحور والأرابيدوبسيس عما هو الحال مع SITD2 . حقيقة أن الأرابيدوبسيس والحور والطرز أن كل منها يملك جين TD منفرد يعضد فرضية أن SITD1 يلعب دوراً أساسياً فى التخليق الحيوى Ile . الصور المشابهة المحفزة بالجسمونات من الطماطم (SITD2) والبطاطس (SITD2) تمثل تحت مجموعة مميزة من البروتينات التى تشابه تتابع TD من البسلة . نقص تعبير TD الواضح فى طفرة Jail النباتية مع حقيقة أن هذه الطفرة لا تظهر أعراض (مثل النمو القزمى) لنقص Ile موضحاً أن TD1 يستطيع إنتاج حزم Ile والتى تستخدم للنمو والتطور الطبيعى فى غياب TD2 .

الدليل المباشر لفكرة أن TD له دور فى الدفاع ضد الحشرات أتى من ملاحظة أن تراكم TD2 فى قرص الغذاء وبراز يرقات M.sexta الآتى من أوراق الطماطم . النشاط

العالى للجين TD2 فى المعدة يرتبط بالمستويات المنخفضة عن الثريوينين Thr . مستوى أمونيا المعدة والتى تنتج من فقد الأمين من Thr المساعدة بواسطة إنزيم TD ووجد مرتبط كذلك مع نشاط TD2 . الدراسة الحديثة بواسطة Kang et al. (2006) أعطت دليل اضافي عن دور TD فى الدفاع ضد الحشرات . أظهر هؤلاء البحاث أن نباتات الدخان التى تعانى من نقص TD مشكوك فى مقاومتها ليرقات M.sexta . إمداد أوراق نباتات الدخان بالثريونين يؤدى إلى زيادة أداء اليرقات ما أدى إلى الاقتراح بأن تيسر الثريونين فى الغذاء اليرقى يعتبر عامل محدد لنمو اليرقات . على عكس الطماطم والبطاطس فإن الدخان به جين TD منفرد (Kang et al., 2006) . إخماد هذا الجين يؤدى إلى نقص فى Ile ويقزم نمو النبات . مستويات Ile المنخفضة فى الخطوط الخامدة تسبب نقص فى إنتاج جاسمونويل Ile (JA – Ile) وهى تمثل إشارة هامة فى استجابات الدفاع المحفزة لمسببات الأمراض والحشرات . لذلك فإن الدور الدفاعى لإنزيمات TDs فى نباتات الدخان ترجع إلى مشاركتة فى تخليق JA – Ile ووظيفته فى الدفاع بعد التناول. الدور المزدوج لإنزيم TD الدخان قد يفسر موضع البروتين الغامض فى شجرة إنزيم TD الوراثية النباتية (الشكل ٧-٧) مما أدى إلى الاقتراح بأن نشوء هذه الصورة كإنزيم مضاد للتغذية يجابه تحدى بواسطة وظيفته الضرورية فى التخليق الحيوى Ile . TD2 الطماطم يفترض عدم تعرضه لهذا التحدى بسبب وجود TD1 . لذلك فإن TD2 قد يكون عالى التخصص كإنزيم دفاعى نشط فى المعدة .



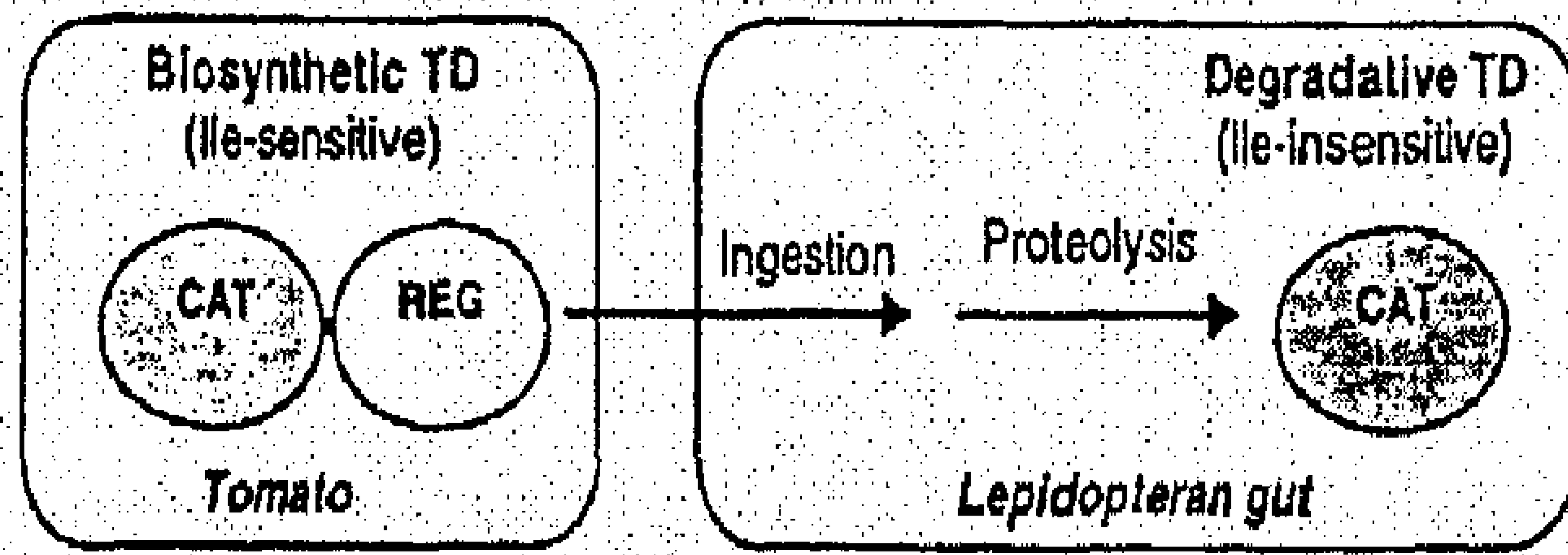
شكل (٧-٧) : نشوء إنزيم ثريونين أمينيز النبات . لقد أنشأت شجرة بدون جذور متصلة الجوار مع تتابع الحمض الأمينى المسئول عليه لإنزيم TD2 من النباتات الموضحة . الأعداء الموضوعة كما يلى :

Accession numbers : Maize (CO446428) , Sugarcane (CA208490) , Rice (NP 001051069) , Poplar (estext – fgenesh4- pg. C-280257) , Arabidopsis (NP-187616) Aquilegia (DT735861) , Tomato TDI (ABK20067) , Potato TD1 (BI436101) , N.attenuata (AAX22214), Chickpea (Q39469) , Tomato TD2 (P25306) , and Potato TD2 (X67846) , The sequences cluster into two subgroups designated "1" and "2" Because of its ambiguous posit in the tree , N.attenuata TD was not assigned to either group .

إنزيمات TD's المخلقة حيوياً تحتوى على نظام محفز ذات نتروجينية طرفى ونظام تنظيمى يحتوى على كربون طرفية . ارتباط Ile للأساس التنظيمى يؤدى إلى وضع انتقالى اللوستراتى يعمل على تثبيط النشاط المحفز بشدة . المستوى العالى من نشاط TD2 فى المعى الأوسط لحشرة M.sexta المرباة على الطماطم أدت إلى الاقتراح بأن صفات التنظيم الخاصة بالإنزيم بطريقة أدت إلى تحقيق عدم الحساسية إلى Ile .تحليل الإنزيم فى الخارج In vitro أظهر أن TD2 المعزولة من المجموع الخضرى للطماطم تم تثبيطها بشدة بواسطة Ile بينما نشاط TD2 فى المعى الأوسط ومستخلص البراز كان غير حساس إلى Ile . باستخدام التحليل بالأجهزة المتقدمة LC – MS / MS على مستخلصات المعدة تم الكشف عن عدد هائل من الببتيدات المقابلة للأساس التحفيزى . هذا ولو أنه حدث فشل فى الكشف عن الببتيدات من الأساس التنظيمى . لذلك تم الاقتراح بأن الأساس التنظيمى لإنزيم TD2 يتمثل فى الكسر من جراء التحلل المائى للبروتينات من الأساس التحفيزى الذى يلى تناول الأوراق بواسطة الحشرة . الإنزيم المقطوع الناتج يمكن أن يهدم الثريونين بشكل فعال وهو مطلب غذائى للحشرات الملتهمة للنباتات فى معدة الحشرة الغنية فى Ile .

لإثبات أن عملية التحلل المائى للبروتينات تشترك فى إنتاج TD2 ذات الشكل غير الحساس Ile يكون من الضرورى وضع علاقة المنتج – البادىء بين الصورة 55 ~ KDa للبروتين الذى يتراكم فى أوراق الطماطم (Sanach et al., 1995) والصورة المجهزة افتراضياً للإنزيم . أظهرت الدراسات المناعية أن الأجسام المضادة التى تضاد TD2 تتفاعل عبورياً مع البروتين 55 KDa ~ فى أوراق الطماطم التالفة من هجوم الحشرات . على العكس فإن البروتين منخفض الوزن الجزيئى 40 KDa ~ الذى يشار إليه PTD2 هو الصورة السائدة للبروتين فى مضغة الغذاء والبراز . أظهرت هذه النتائج أن PTD2 ينتج بواسطة عملية تحلل للبروتين فى TD2 بعد تناول أوراق الطماطم بواسطة M.sexta . الغياب تقريباً الخاص TD2 غير المجهز فى مستخلصات المعدة أدى إلى الاقتراح بأن تفاعل التجهيز يحدث بسرعة فى نسيج الورقة المهروس والمتناول . لقد وجد أن PTD2 هو الصورة السائدة للإنزيم فى براز حشرة Trichoplusiani (نطاط الكرنب) المرباة على الطماطم وهى حشرة عامة . تمشياً مع هذه النتيجة فإن براز حشرة

T.ni يحتوى على TD نشط وهو غير حساس للتثبيط بواسطة Ile . لذلك فإن تناول الأوراق بواسطة الحشرات آكلات الأوراق الخاصة والعامة تؤدى إلى إزالة التحلل البروتينى للأساس التنظيمى لإنزيم TD2 مما يؤدى إلى إنزيم قادر على هدم الثريونين ك يد أن يثبط خلال الرجوع بواسطة Ile . لقد اقترح نموذج لهذا الوضع يشير إلى مآل إنزيم TD2 فى الطماطم فى معدة حرشفية الأجنحة (الشكل ٧-٨) . تركيب TD2 أدى إلى الاقتراح بأن تفاعل التجهيز يتضمن إنزيم بروتييز داخلى فى النبات أو الحشرة والذى يتكسر منطقة الارتباط بين الأسس التنظيمية والمحفزة . مطلوب دراسات إضافية لاختبار هذه الفرضية .



شكل (٧-٨) : نموذج التنشيط بالتحلل البروتينى لإنزيم TD2 فى الطماطم استجابة لهجوم آكل النباتات . CAT تمثل الأساس التحفيزى ، REG تمثل الأساس التنظيمى .

توجد خصائص أو صفات عديدة لإنزيم TD2 افترض قبلا أنها تسهل دورها فيما بعد التناول للدفاع . بداية فإن TD2 غير حساس للتثبيط الرجعى بواسطة Ile . ثانياً فإن PTD2 عالى المقاومة للبروتييزيس الهاضمة فى الحشرات كما تحدد بواسطة المستوى العالى التى يتم إخراج الإنزيم النشط فى البراز . ثالثاً فإن PTD2 يكون نشط فى مدى درجة حموضة قلوية تتوافق مع معدة حشرات حرشفية الأجنحة حيث لم تلاحظ أية أنشطة أو كانت قليلة على درجات حموضة تحت (٦) . رابعاً فإن PTD2 تكون نشطة عند درجات حرارة أعلى من ٦٠°م . هذا الثبات الحرارى يوضح أن الإنزيم سيكون فعالاً عند درجات حرارة الجسم المرتفعة والتى فى حالة ديدان M.sexta تحت الظروف العادية تزيد عن ٣٥°م (Casay , 1976) . فى النهاية فإن نظام تعبير إنزيم TD2 يتوافق مع الوظيفة الخاصة بالدفاع ضد آكلات الأوراق . TD2 يحفز تنسيقياً مع جينات الدفاع الأخرى استجابة للجروح والمعاملة بالجسمونات . المستوى العالى لتعبير إنزيم TD2 فى أنسجة التكاثر فى الطماطم مشابه للعديد من بروتينات الدفاع المنظمة بالجسمونات متضمنة مثبطات PI's والأرجينيز LAP-A و AtVsp2 (Chao et al., 1999) . هذه

الملاحظات تعضد فكرة أن تراكم TD فى الأنسجة الخاصة بالإحياء تعكس الميكانيكية التى تحمى تراكيب التكاثر من آكلات الأوراق .

التنوع الوظيفى لـ SITD1 , SITD2 توضح أن الإنزيم المشابه للدفاع الأخير قد ينشأ من TD المحفوظ . من العقلانية افتراض كمثال أن TD2 تنشأ من تضاعف الجين وأن الضغط الانتخابى الذى يحدث بواسطة آكلات الأوراق تؤدى إلى نشوء TD2 . من الملامح الهامة المكتسبة بواسطة TD2 وغيرها من بروتينات الدفاع ما بعد التناول خلال النشوء تنظم بواسطة مسار التأشير بالجسمونات . من غير الواضح ما إذا كان TD2 يخلق صفات بيوكيميائية أو تركيبية جديدة تساعد مقدرته على هدم الثريونين فى معدة الحشرة . البحوث المستقبلية تستهدف مقارنة ثبات ونشاط وتركيب TD1 , TD2 تقدم رؤية إضافية فى هذا التساؤل .

٤- بروتينات التخزين الخضرية Vegetative storage proteins

بروتينات التخزين الخضرية (VSP's) تشمل مجموعة متشعبة من البروتينات التى تتراكم لمستويات عالية فى الأعضاء الخضرية المختلفة للنبات ديناميكية تراكم VSP والهدم فى الأنسجة النباتية يتم السيطرة عليها بواسطة إشارات التطور والبيئة (Berger et al., 1995) . بروتينات التخزين الخضرية VSPs الأكثر توصيفاً والتى عرفت فى البداية هى VSPs , VSP B (Sta.swick 1994) . النظرية الأكثر شيوعاً تتمثل فى أن وظيفة VSPs المتراكمة كمصدر للأحماض الأمينية وغيرها من المغذيات الأخرى لتطور البذور . هذا ولو أن النتائج من تجارب الهندسة الوراثية فى نبات فول الصويا التى تعانى من نقص VSP توضح أن VSPs تساهم قليلاً فى إنتاجية النبات . لذلك فإن الأدوار البديلة للـ VSPs فى تخزين الغذاء أوغيرها من نواحى فسيولوجية النبات يجب أن تؤخذ فى الاعتبار .

من النواحى الممكنة لفهم وظيفة VSP دراسة النشاط الإنزيمى لهذه البروتينات . VSP's لفول الصويا ونباتات الأرابيدوبسيس تظهر نشاط الفوسفاتيز (Leelapon et al ., 2004) بينما الباتاتين من درنات البطاطس هو ليبيد أسيل هيدروليز . VSP's السائد فى القلف من شجر التوت عبارة عن الليكينات شبيه الجاكالين . VSP's من البطاطا والبرسيم وجد أنها تعمل كمثبطات للتربسين والكيتينزيس على التوالى (Yeh et al., 1997) . هذه الملاحظات زادت من إمكانية أن VSP's عبارة عن إنزيمات التى تكتسب بالتبعية وظيفة تخزين البروتين . بالبدائل فإن وظيفة VSPs قد ترتبط فى النهاية بالنشاط الإنزيمى . فى هذا المقام تجدر ملاحظة أن العديد من الأنشطة التى ذكرت أعلاه ترتبط تقليدياً بعمليات الدفاع فى النباتات . من الأدلة الإضافية التى تعضد دور VSP's فى دفاع

النبات تأتت من الحقيقة المؤكدة بأن تعبير VSP فى الأنسجة الخضرية يحفز بشدة بواسطة الجروح وهجوم آكلات النباتات والمعاملة بالجسمونات فى الأنسجة الخضرية والتكاثر . غياب تعبير VSP فى الأنسجة الخضرية والتكاثر فى طفرة الارابيدموبسيس كويل أظهرت أن تعبير هذا البروتين يسيطر عليه بإحكام بواسطة مسار تأشير الجسمونات (Benedetf et al., 1995) .

الاختراق الكبير لفهمنا عن وظيفة VSP أتت من التحليل الحديثة لبروتينات VSP2 فى الأرابيدوبسيس و VSP2 المنقى وعندما تم غرسه فى البيئات المغذية الصناعية أحدث نشاط مؤثر مضاد للحشرات من رتبة ثنائية وغمدية الأجنحة التى فيها تجويف معدة حامضى . التأثير المثبط للنمو لبروتينات VSP2 على هذه الحشرات كان أكبر عشر مرات على الأقل عن البروتينات الأخرى المضادة للحشرات ومنها سيستاثين والليكتين . الطفرية الموجهة الموقع أظهرت بالتأكيد أن نشاط الفوسفاتيز لبروتينات VSP2 ضرورى لإحداث التأثيرات الابادية للبروتينات على الحشرات . هذه النتائج تقدم دليل عن أن VSP2 هو بروتين مضاد للحشرات فإن نشاط بروتين الفوسفاتيز محدد بشكل حرج لتحقيق هذه الوظيفة . كيفية إحداث الفعل لبروتين VSP2 مازالت فى حاجة للبحث والتقدير . إذا أخذ فى الاعتبار أهمية الفوسفور الغذائى لنمو الديدان التى تأكل الأوراق يكون من المتصور أن التأثيرات الدفاعية لبروتينات VSP2 قد يرجع إلى مقدرة أو قابلية الإنزيم لإحداث تشويش اتزان الفوسفات فى تجويف المعدة .

References

Andrews DL, Beames B, Summers MD, Park WD (1988) Characterization of the lipid acyl hydrolase activity of the major potato (Solanum tuberosum) tuber protein, patatin , by cloning and abundant expression in a baculovirus vector. Biochem J 252:199-206

Berenbaum MR (1995) Turnabout is fair play – Secondry roles for primary compounds. J Chem Ecol 21:925-940

Broadway RM, Duffey SS (1988) The effect of plant protein quality on insect digestive physiology and the toxicity of plant proteinase inhibitors. J Insect Physiol 34:1111-1117

Casey TM (1976) Activity patterns, body temperature and thermal ecology in two desert caterpillars (Lepidoptera: Sphingidae). Ecology 57:485-497

Chen H, McCaig BC, Melotto M, He SY, Howe GA (2004) Regulation of plant arginase by wounding, jasmonate, and the phytotoxin coronatine. J Biol Chem 279:45998-46007

Feeny P (1976) Plant apparency in chemical defense. Recent Adv Phytochem 10:1-40

Felton GW (2005) Indigestion is a plant's best defense. Proc Natl Acad Sci USA 102:18771-18772

Gfeller A, Farmer EE (2004) Keeping the leaves green above us. Science 306:1515-1516

Green TR, Ryan CA (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects. Science 175:776-777

Howe GA (2004) Jasmonates as signals in the wound response. J Plant Growth Regul 23:223-237

John SJ, Srivastava V, Guhamukherjee S (1995) Cloning and sequencing of chickpea cDNA coding for threonine deaminse. Plant Physiol 107:1023-1024

Kessler A, Baldwin IT (2002) Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. Annu Rev Plant Biol 53:299-328

Leelapon O, Sarath G, Staswick PE (2004) A single amino acid substitution in soybean VSP alpha increases its acid phosphatase activity nearly 20-fold. Planta 219:1071-1079

Major IT, Constabel CP (2006) Molecular analysis of popular defense against herbivory: comparison of wound and insect elicitor-induced gene expression. New Phytol 172:617-635

Mourad G, King J (1995) L-O-Methylthreonine resistant mutant of Arabidopsis defective in isoleucine feedback regulation. Plant Physiol 107:43-52

Perkins MC, Woods HA, Harrison JF, Elser JJ (2004) Dietary phosphorus affects the growth of larval Manduca sexta. Arch Insect Biochem Physiol 55:153-168

Rhoades DF, Cates RG (1976) Toward a general theory of plant antiherbivore chemistry. Reent Adv Phytochem 10:168-213

Ryan CA (1990) Protease inhibitors in plants – Genes for improving defenses against insects and pathogens. Annu Rev Phytopath 28:425-449

Satriano J (2004) Arginine pathways and the inflammatory response: interregulation of nitric oxide and polyamines: review article. Amino Acids 26:321-329

Staswick PE (1990) Novel regulation of vegetative storage protein genes. Plant Cell 2:1-6

Szamosi I, Shaner DL, Singh BK (1993) Identification and characterization of a biodegradative form of threonine dehydratase in senescing tomato (Lycopersicon esculentum) leaf. Plant Physiol 101:999-1004

Umbarger HE (1956) Evidence for a negative-feedback mechanism in the biosynthesis of isoleucine. Science 123:848

Vincendeau P, Gobert AP, Daulouede S, Moynet D, Mossalayi MD (2003) Arginases in parasitic diseases. Trends parasitol 19:9-12

Walling LL (2000) The myriad plant responses to herbivores. J Plant Growth Regul 19:195-216

Yeh KW, Chen JC, Lin MI, Chen YM, Lin CY (1997) Functional activity of sporamin from sweet potato (Ipomoea batatas Lam): a tuber storage protein with trypsin inhibitory activity. Plant Mol Biol 33:565-570

الباب الثامن

اللكيتنات النباتية والمواد العطرية المتطايرة فى دفاع النبات ضد الآفات

أولاً : اللكتينات النباتية جزء من نظام دفاع النبات ضد الحشرات

Plant Lectins as Part of the Plant Defense System Against Insects

العديد من النباتات تحتوى على بروتينات مرتبطة بالكربوهيدرات والتى يطلق عليها بشيوع لكتينات Lectins . لقد كان يعتقد أن بعض من هذه اللكتينات تلعب دوراً فى دفاع النبات ضد الحشرات . فى هذا المقام سوف نستعرض وضع فى البحث فى مجال لكتين النبات وإلقاء الضوء عن أهم مخرجات النشاط الابادى للكتينات على الحشرات التى تنتمى لعائلات مختلفة . لقد تم التفرقة بين اللكتينات التقليدية التى تعبر تكوينياً واللكتينات المحفزة. كذلك سوف نناقش كيفية إحداث الفعل والمواقع المستهدفة فى جسم الحشرة .

١- مقدمة

خلال النشوء والتطور طورت النباتات مدى عريض من ميكانيكيات الدفاع لمجابهة هجوم مسببات الأمراض النباتية وآكلات الأوراق . هذه الميكانيكيات تتضمن وسائل الدفاع الميكانيكية والكيميائية والسماح للنبات بالبقاء والمعيشة فى نفس البيئة كما هو الحال مع مهاجمة الأعداء . كجزء من ميكانيكية الدفاع الميكانيكية تقوم النباتات بتخليق قسم خاص من بروتينات الدفاع وهو اللكينتات النباتية وهذه تمثل مجموعة غير متجانسة من البروتينات التى تتداخل بشكل خاص مع كربوهيدرات خاصة . فى هذا المقام سوف نركز على دور البروتينات المرتبطة بالكربوهيدرات (Lectins) فى دفاع النبات ضد الحشرات. سوف نناقش بالتفصيل النشاط الابادى ضد الحشرات لعائلات مختلفة من البروتينات المرتبطة بالكربوهيدرات . كذلك سوف نناقش بعض النتائج الحديثة عن اللكتينات المحفزة فى دفاع النبات ضد الحشرات .

E.J.M. Van Damme
Laboratory of Biochemistry and Glycobiology , Department of Molecular Biotechnology , Ghent University , 9000 Gent , Belgium .
e-mail : ElsJM.VanDamme@Gent.be
A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistane to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008 .

٢- توزيع لكتينات النبات

العديد من النباتات تتضمن النباتات التى نحصل منها على الطعام مثل القمح والأرز والبطاطس والطماطم وفول الصويا والفول وهى تحتوى على بروتينات مرتبطة بالكربوهيدرات والتى يشار إليها باللكتينات أو الأجلوتنينات أو الهيماجلوتينيات . تبعاً للتعريف الحديث المقترح فإن هذه المجموعة من البروتينات تشمل " جميع البروتينات النباتية التى تملك واحد على الأقل من الدوائر غير المحفزة التى ترتبط عكسياً مع السكريات الخاصة الأحادية أو المحدودة " . حتى الآن تم عزل حوالى ٥٠٠ من اللكتينات النباتية المختلفة وتم توصيفها جزئياً . من النظرة الأولى فإن جميع هذه اللكتينات تكون مجموعة غير متجانسة من البروتينات بسبب الاختلافات الواضحة فى التركيب والتخصصية والأنشطة البيولوجية . هذا ولو أن غالبية جميع اللكتينات النباتية يمكن تقسيم على أساس تحاليل التراكيب وبيانات التتابع فى سبعة عائلات من البروتينات المرتبطة تركيبياً ونشوئياً . عائلات اللكتين هذه تشمل :

١- القطيفية Amaranthins .

٢- لكتينات لحاء القرعيات .

٣- اللكتينات المرتبطة بالكيتين التى تتكون من دوائر Hevein .

٤- اللكتينات المرتبطة مع GNA .

٥- اللكتينات المرتبطة بالجاكالين Jacalin .

٦- لكيتينات البقوليات .

٧- اللكتينات مع دوائر الريسين B (Van Damme et al., 2007b) .

حديثاً تم الإشارة إلى دليل عن حدوث سلسلة متجانسة من الأجلوتينين فى نباتات Agaricas bisporus وسلسلة متجانسة من قسم V chitinases مع نشاط مرتبط بالسكر.

ولو أن اللكتينات ولمدة طويلة اعتبرت بروتينات بذور تقليدية فإن حدوث لكيتنات النبات فى الأنسجة النباتية أصبح الآن موثق جيداً . توجد اختلافات واضحة فيما يتعلق بموقع وتركيز اللكتينات المختلفة . لكتينات البذور وجدت أولياً فى الفلقات (أنواع البقوليات) أو فى الاندوسيرم ولكنها قد تكون قاصرة على المحور الأولى (مثل القمح). لكتينات البذور تمثل بوجه عام ٠,١ – ٥% من البروتين الكلى فى البذور . لم يتم الكشف عن لكتينات البذور فى جميع الأنسجة الخضرية على امتداد الأوراق والسيقان والقلف والأبصال والريزومات والجذور وحتى الأزهار وعصير اللحاء وحتى الرحيق . تركيزات

اللكتين فى أنسجة التخزين الخضرى قد تصل إلى ٥٠% من البروتين الكلى بينما فى الأنسجة الأخرى يكون اللكتين مجرد آثار (كما فى أوراق الكرات) . فى المتوسط فإن اللكتينات فى الأنسجة الخضرية تصل إلى ٠,١ – ٥% من البروتين الكلى.

٣- اللكتينات النباتية التقليدية والمحفزة

لسنوات عديدة ركزت بحوث اللكتينات النباتية على مجموعة اللكتينات التى تحدث بتركيزات معقولة وحتى العالية فى الأنسجة النباتية المختلفة . بسبب تركيزات اللكتين العالية والتنظيم التطورى كان من الصعوبة تصور دور خاص لهذه اللكتينات داخل خلية النبات . العديد من الأدلة أظهرت أن غالبية هذه اللكتينات قد تشترك فى تحقيق دفاع النبات. فى هذا الخصوص فإن لكتينات النبات تختلف فى الأساس عن لكتينات الحيوان لأن الأخير يشترك فى عمليات تمييز خاصة داخل الكائن نفسه . إذا أخذ فى الاعتبار الدليل المتزايد بأن التداخلات بين البروتين والكربوهيدرات ذات أهمية كبيرة جداً للتطور العادى والوظيفية فى الكائنات الحيوانية وكذلك حقيقة أن الأنواع المختلفة من اللكتينات هى التى تعول هذه التداخلات بين البروتين والكربوهيدرات يبرز التساؤل ما إذا كان نفس الأدلة حقيقية مع النباتات . حديثاً فإن البحوث فى اتجاه اللكتينات النباتية النشطة فسيولوجياً أدت إلى اكتشاف عائلات لكتين مختلفة والتى تعول التداخلات الضرورية للبروتين – كربوهيدرات فى النبات نفسه . لقد تجمعت الأدلة بأن النبات تقوم بتخليق بروتينات مرتبطة بالكربوهيدرات معرفة جيداً (لكتينات) عند التعرض لإجهادات مثل العطش والملوحة العالية والجروح أو المعاملة ببعض الهورمونات (Zhang et al , 2000) . الدراسات الموضعية أظهرت أنه على عكس اللكتينات النباتية التقليدية التى وجدت تقليدياً فى الفجوات فإن اللكتينات المحفزة تقع حصرياً فى السيتوبلازم والنواة . لقد أقترح أن هذا القسم الجديد من اللكتينات قد تلعب دوراً خاصاً داخل الخلية النباتية . فى هذا المقام سنعطى فكرة مختصرة عن اللكتينات التقليدية والمحفزة التى تم تعريفها جيداً (جدول ٨-١) .

جدول (٨-١) : استعراض لعائلات اللكتين النباتية المختلفة ، موضعها وخصائص الارتباط الكربوهيدراتى والنشاط الابادى على الحشرات .

Lectin family	Vacuolar lectins	Nucleocytoplasmic lectins	Carbohydrate specificity	Insecticidal activity*
Amaranthin family	No examples known	Documented in Amaranthus sp. And Pruus sp.	GalNAc/T antigen	+
Cucurbitaceae phloem	No examples known	Wide taxonomic distribution	(GlcNAc)n N-glycans	?

Lectins / Lectine with Nictaba domain				
GNA- related lectins	Wide taxonomic distribution	Found in diverse taxa	Man High Man N-glycans	+++
Chitin – binding lectins	Wide taxonomic distribution	No examples known	(GlcNAc)n N-glycans	++
Composed of hevein domains				
Jacalin – related lectins	Only documented in afew Moraceae sp.	Ubiquitous	Gal/T-antigen Man N-glycans	+
Legume lectins	Common in Febaceae and Lamiaceae	No examples known	Man/Glc Gal/GalNAc (GlcNAc)n Fuc,Siaa2-3 Gal/GalNAc	++
Lectins with Ricin – B domains	Wide taxonomic distribution	No examples known	Gal/GalNAc Siaa2-6 Gal/GalNAc	

* Insecticidal activity has been reported for many (+++), several (++), a few (+) or no (?) lectins from this plant family.

عائلة أمارانثين Amaranthin family

عائلة أمارانثين الذى أطلق عليها هذا الاسم بعد الكشف عن لكتين بذرة أمارانسيس كوداتس وهى عائلة صغيرة تحتوى على اللكتينات القريبة من بعضها التى وجدت فى أنواع أمارانسيس . جميع الأمارانثينيات المعروفة عبارة عن بناء من الديمرات المتجانسة التى تحتوى على تحت وحدات 33 KDa . أظهرت دراسات التخصص التفصيلية أن الأمارانثين يميز T- entigen disaccharide Gal, B (1,3) GalNAc .

لكتينات لحاء القرعيات

عائلة لكتينات لحاء القرعيات عبارة عن مجموعة صغيرة من الأجلوتينيات المرتبطة بالكيتين التى وجدت فى إفرازات لحاء عدد من أنواع القرعيات (Sabnis and Hart

(1978 . يطلق عليها هذه اللكتينات كذلك بروتينات اللحاء PP2 وهى بروتينات ديميرية تبنى من تحت وحدات تقارب 22 KDU .

اللكتينات المرتبطة GNA

فى عام ١٩٨٧ تم عزل اللكتين ذات التخصص الاجبارى للمانوز (Man) وتم توصيف خصائصه فى أبصال زهرة اللبن الثلجية Galanthus nivalis . ما يطلق عليه G.nivalis agglmtinin (يختصر GNA) يرجع إلى النوع الأولى للعائلة المتوسعة للكتينات المرتبطة بالمانوز التى تحدث فى عديد فى عائلات النباتات وحيدة الفلقة Alliaceae , Liliaceae , Orchidaceae , Araceae , Bromeliaceae , Ruscaceae , Iridaceae (Yagi et al., 1996) . لذلك فإن هذه المجموعة من اللكتينات كان يشار إليها فى الأصل باللكتينات المرتبطة بمانوز نباتات وحيدة الفلقات . حديثا تم تعريف لكيتينات شبيهة جداً فى النباتات بخلاف Lillopsida (كما فى حشيشة لقائق الكبد وكذلك فى البكتريا والحيوانات) . لذلك يطلق على هذه المجموعة من اللكتينات الآن بدوائر – GNA بعد تعريف المركب الأول . جميع لكتينات البنات مع دوائر -GNA تتكون من تحت وحدات تقارب KDa 12 الذى أظهرت تخصص للمانوز . اللكتينات المرتبطة -GNA من النباتات المختلفة تظهر اختلافات واضحة فى التخصص تجاه الأوليجومانوسيدات وكذلك ن – جليكانات (Kaku et al., 1990) .

اللكتينات المرتبطة بالكيتين المكون من دوائر الهيفين

الاسم هيفين Hevein يشير إلى البولى ببتيد ذات ٤٣ حمض أمينى مرتبط بالكيتين الذى يوجد فى لبن شجرة المطاط Hevea brasiliensis . العديد من بروتينات النبات ترجع نشاطها المرتبط باللكتين إلى وجود واحد أو أكثر من دوائر الهيفين . هذا ولو أنه أتضح أن اللكتينات المختلفة ذات الهيفين لها قابلية عالية إلى ن – جليكوسيلات فى الجليكوبروتينات الحيوانية . هذه المجموعة من اللكتينات واسعة الوجود وتحدث فى كلا وحيدة الفلقة (مثل أجلوتينين جنين القمح WGA) وثنائية الفلقات مثل (لكتين البطاطس) فى الأنواع النباتية.

اللكتينات المرتبطة بالجاكالين

عائلة اللكتينات المرتبطة بالجاكالين تشمل جميع البروتينات مع واحد أو أكثر من الدوائر التى تتكافىء تركيبياً مع الجاكالين واللكتين المرتبط بالجلاكتوسيد من بذور ثمار الجاك . فى السنوات الحديثة تم اكتشاف العديد من اللكتينات المرتبطة بالجاكالين ذات تخصصية تجاه المانوز وتم توصيفها بالتفصيل . الآن تم تقسيم عائلة اللكتينات المرتبطة بالجاكالين إلى تحت عائلتين مع تخصصية متميزة وتركيب جزيئى متميز . اللكتينات

المرتبطة بالجالاكتوز Gal – الجاكالين الخاص تبنى من أربعة محفزات منقسمة تتضمن تحت وحدات صغيرة (متبقيات B , ٢٠ حمض أميني) وكبيرة (& – ١٣٣ حمض أميني) ولها تفضيل واضح للجالاكتوز أكثر من المانوز (Bourne et al., 2002) . على العكس فإن اللكتينات المرتبطة بالمانوز والجاكالين الخاص تبنى من محفزات غير منقسمة من حوالي ١٥٠ حمض أميني لكل منها حيث تحقق تخصصية حصرية تجاه المانوز .

لكتنيات البقوليات

من الناحية التاريخية فإن لكتين البقول Legume lectin يشير إلى البروتينات التى ترتبط تركيبياً ونشؤياً بنوع اللكتين المعرف جيداً والذى اكتشف فى الأصل فى بذور البقوليات (Fabaceae) مثل فول الجاك والفول الشائع والبسلة والفول السودانى وفول الصويا . حتى وقت قريب كانت لكتينات البقول توجد فى عائلة Fabacen . هذا ولو أن عزل وكلونة الأجلوتينين قريب الارتباط تركيبياً ونشؤياً من أوراق Glechoma hederacea أظهر أن اللكتينات المرتبطة عن قرب تحدث كذلك فى عائلة Leminaceae عائلة لكيتينات البقول من نوعى Fabaceae , Lamiaceae متجانسة كما فى التركيب الجزيئى للاكتينات الأصلية . جميع اللاكتينات تتكون من تحت وحدات تقارب 30 KDa والعديد منها جليكوبروتينات .

ولو أن المواقع الشاملة للكتين ومواقع ارتباطه بالكربوهيدرات محفوظة بدرجة عالية إلا أن عائلة لكتين البقول تظهر عدم تجانس ملحوظ فى النشاط المرتبط بالسكر (Young and Oomen , 1992) . لكتينات البقول مع التخصص الموجه ضد الجالاكتوز (Ga1)، ن– أسيتيك جالاكتوسامين (GaINAc) ، مانوز / جلوكوز (Man / Gle) ، الفكوز (Fuc) ، ن – أسيتايل جلوكوسامين (GI , NAc) ، وحامض سياليك وجدت كذلك على صورة لكتينات عديدة حصرياً تراكيب جليكان أكثر تعقيداً . على العكس فإن اللكتينات من أنواع Lamiaceae تظهر تخصصية توجه أولياً ضد الأنتيجين T- (GalNAc& - 1 Ser / Thr) .

لكتينات مع دوائر ريسين – B

هذه المجموعة من اللكتينات النباتية كان يشار إليها قبلاً على أنها البروتينات المعطلة بالريبوسوم وتختصر (RIPs) بسبب حقيقة أن هذه البروتينات تم تعريفها فى البداية على أنها بروتينات نباتية تعطل ريبوسومات Pukaryotic من خلال إزالة بقايا الأدينين المحفوظ من RNA الريبوسومى الكبير (Stripe,2004) . فى الوقت الحالى فإن RIPs تعتبر إنزيمات تسمى ن – جليكوسيليزيس (EC3.2.22) ذات المقدرة على كسر مخلفات

الأدينين من وسائط بولى نيوكلو تيدات المختلفة . بناء على تراكيبها الجزئية فإن RIP's تقسم إلى RIP's من النوع ١ ، النوع ٢ ، النوع – ٣ وهى بروتينات وهمية Chimeric تبنى من بروتوميرات تتكون من سلسلة إنزيمية نشطة -A وسلسلة B– مرتبطة بالكربوهيدرات وكلاهما مشتقان من بادىء منفرد ويمسكا معاً بواسطة رابطة دايسلفيد . فى النهاية فإن RIP's من النوع – ٣ عبارة عن بروتينات وهمية تبنى من دوائر ن – جليكوسيليز مع ن – طرفية مرتبط بدائرة ذات كربون طرفى ومازالت طريقة إحداث الفعل والفاعلية نفسها غير معروفة . إذا أخذ فى الاعتبار تعريف اللكتينات النباتية فإن السلسلة -B للنوع RIP's -2 يمكن أن تقسم كإطار لكتين . لذلك فإن إطار اللكتين يشار إليه كإطار ريسين -B وسمى بعد ذلك " ريسين Ricin " وهو أول وأكثر RIP شهرة من بذور Ricinus communis .

معظم أطر الريسين -B النباتية تفضل الارتباط بالجالاكتوز أو GaINAc . هذا ولو بعض اللكتينات تظهر تفضيل واضح للسياليتيد جلايكانات (مثل Lectin للنبات سبموكس ينجرا) . كما ذكر أعلاه فإن RIP's من النوع الثانى ليس لكتينات فقط ولكنه يشمل أيضاً إنزيمات قادرة على تعطيل الريبوسومات (تحفيزياً) . لذلك فإنها توكسينات خلوية شديدة الفعل والتأثير على الأقل تحت الظروف التى تحقق لها نجاح دخول الخلية النباتية . من الأمثلة الأكثر وضوحاً للنوع RIP -2 هو الريسين المتناهى السمية . هذا ولو أنه اتفق على أن معظم النوع RIP 2 للكتين متوسط أو ضعيف السمية . الاختلاف الكبير فى السمية لا يرتبط بالاختلافات فى النشاط التحفيزى للسلسلة -A ولكن ذلك يتحدد أولياً بواسطة قابلية اللكتين للنفاذ فى الخلية وهذه تعتمد بدورها على التخصصية المرتبطة بالسكر للسلسلة -B.

اللكتينات المحفزة

لقد تحصل على دليل لا يقبل الشك عن وجود اللكتينات المحفزة بالجسمونات من التجارب الحديثة على نباتات الدخان المعاملة بالجسمونات . النباتات غير المعاملة لا تحتوى على نشاط لكتين واضح . بعد المعاملة بالجسمونات عبرت الأوراق لنباتات الدخان الصغيرة عن تركيزات منخفضة من اللكتين (تسمى ن . تاباكوم أجلونثيسنين أو Nictaba) مع تخصصية تجاه الأوليجوميرز لمركب ن – أسيتايل جلوكوسامين . نكتابا عبارة عن ديمر متجانس مكون من تحت وحدات 1g KDa . أظهر تحليل التتابع للنكاتابا ومقارنة مع تتابعات أخرى فى قواعد المعلومات أن لكتين النبات هذا يمثل عائلة جديدة من بروتينات السيتوبلازم المحفزة مع تشابه تتابع مع لكتينات لحاء القرعيات . دراسات الموضع المناعى أكدت أن نكتابا يعبر عنه فى السيتوبلازم والأنوية . بالإضافة إلى ذلك ظهر دليل عن تداخل اللكتين مع بروتينات عديدة فى نواة النبات .

مثال آخر عن اللكتين المحفز يتمثل فى اللكتين المرتبط بالمانوز (يسمى أوريساتا Orysata) والذى يحفز فى نباتات الأرز بواسطة إجهاد الملوحة والجفاف والعدوى بالمرض والهورمونات النباتية حمض الجسمونيك وحمض الأبسيسيك (ABA) . لقد وصف هذا البروتين عام ١٩٩٠ على أنه ملح SaIt (بروتين محفز بالملح Clees et al., 1990) وبعد ذلك تم تعريفه على أنه لكتين ينتمى لعائلة المانوز – جاكالين متخصص – المرتبطة باللكتينات . حيث أن الأوريساتا يخلق فقط تحت ظروف إجهاد خاصة إضافة إلى أنه يقع فى السيتوبلازم والنواة فإنه يفترض أن هذا اللكتين يلعب دوراً فى استجابة النبات لعوامل الإجهاد المعروفة جيداً .

حديثاً تم تعريف عائلات أخرى للكتينات النبات السيتوبلازمية النووية والتى يفترض أن تكون لها خصوصية تجاه المانوز والجالاكتوز . من سوء الطالع أن دراسة هذه اللكتينات تجابه بعقبة مستويات التعبير المنخفضة جداً للكتينات (حتى بعد التحفيز) .

٤- النشاط الابادى للكتينات النباتية ضد الحشرات

خلال الحقبتان الأخيرتان نشرت العديد من التقارير عن النشاط الابادى للكتينات النباتية ضد الحشرات ضد العديد من الآفات الحشرية التى تنتمى لرتب حرشفية وغمدية وثنائية ومتجانسة الأجنحة (Sharma et al ., 2004) . كلا التحاليل خارج الجسم In vitro مع الغذاء الصناعى المقوى باللكتين والتحليل فى داخل الجسم In vivo مع النباتات المتحولة وراثياً التى تعبر عن جين اللكتين الغريب أظهرت الفاعلية العالية للعديد من لكتينات النبات كبروتينات ابادية للحشرات . فى هذا المقام سوف نتناول باختصار الخصائص الابادية للحشرات التى تأكدت مع اللكتينات التى تنتمى لعائلات لكتين مختلفة (جدول ٨-١) .

أمارانثينات

إذا أخذ فى الاعتبار الموضع الحصرى للأمارانثنيات فى البذور وقابليتها العالية للأنتيجين -T يمكن تصور أن هذه اللكتينات تشترك فى دفاع النبات ضد مفترسات البذور . هذا ولو أنه فى الوقت الراهن توجد معلومات قليلة جداً متاحة عن الدور الفسيولوجي للأمارانثينات ودورها فى دفاع النبات . بعض الدراسات الحديثة على تعبير A. caudatus أجلوتينين (ACA) فى لحاء نباتات الدخان والقطن أدت إلى الاقتراح بأن جين ACA يمكن أن يعتبر جين مقاومة فعال ضد المنّ (Wu et al, 2006) . التحليل الحيوى على منّ الخوخ ومنّ القطن أظهر أنه يحدث تثبيط ٧٥% ، ٦٠% على التوالى فى نمو مجموع المنّ النامى على النباتات المتحولة وراثياً مع تثبيط أقصى لمستويات اللكتين .

اللكتينات المرتبطة باللكيتين المكون من دوائر الهيفين

ميزة تداخلها مع GIc NAc – أوليجو ديمرات فإن اللكتينات ذات دوائـــر الهيفـــين (البولى ببتيدات ذات ٤٣ حامض أمينى المرتبط باللكتين) كان يعتقد دائماً أنها مرتبطـــة بدفاع النبات ضد الحشرات . تجارب التغذية على البيئات الصناعية أكدت أن العديد مـــن هذه اللكتينات المرتبطة بالكيتين تتداخل مع نمو وتطور الحشرات . كمثال فـــإن WGA ، لكتين الأرز ، لكتين القراص اللادغ ، ولكيتينات البطاطس والتفـــاح ذات تـــأثير تثبيطـــى متوسط على تطور يرقات سوسة البسلة WGA يثبط نمو يرقـــات دودة جـــذور الـــذرة الجنوبية ويقتل فقس ثاقبة الذرة الأوربية عند تركيزات منخفضة . بالإضافة إلى ذلك فـــإن WGA تظهر نشاط ضد اليرقات لحشرة لوسيليا كوبرينا . على نفس المنوال فإن لكتـــين فينتولاكا أميريكانا قاتل ليرقات جذور الذرة الجنوبية . حـــديثاً أشـــار Gupta et al,m (2005) إلى تأثير WGA ضد اليرقات الصغيرة لدودة اللوز الأمريكية . نتائج تجـــارب التغذية لم تترك ظلالاً من الشك بأن بعض اللكتينات المرتبطة بالكتين ذات تأثيرات ضارة خطيرة على الحشرات القارضة عندما تختبر فى البيئات الصناعية . فى الوقـــت الحـــالى مازال مطلوباً إثبات أن تعبير اللكتين المرتبط بالكيتين فى النباتات المهندسة وراثياً تقـــدم حماية زائدة ضد الحشرات القارضة . الاختيارات مع البيئات الصناعية الغذائية أظهـــرت أن WGA أثرت سلباً على نمو وتكاثر نطاط الأوراق البنى الذى تتغذى على لحاء الأرز ومنّ الخردل . بالإضافة إلى ذلك فإن تحول الخردل الهندى مـــع cDNA التـــى تـــشفر WGA أدت إلى الحصول على نباتات تسبب موت عالى وخفض فى خصوبة المنّ .

اللكتينات المرتبطة مع GNA

بدون شك فإن اللكتينات المرتبطة – GNA من أكثر العائلات التى درست فى اتجاه اللكتينات النباتية بهدف إلقاء الضوء عن دورها فى دفاع النبات ضد الحـــشرات الملتهمـــة للنباتات وغيرها من اللا فقاريات . من الفقد فى صالح دور الدفاع ضد الحشرات الماصة ما لوحظ من أن بعض هذه اللكتينات تتراكم فى عصارة اللحاء . حقيقة أن اللكتين المرتبط بمانوز وحيدة الفلقات من أكثر البروتينات المتوفرة فى إفراز لحاء سيقان الزهـــور فـــى البصل تتفق مع الدور الدفاعى المفترض ضد الحشرات التى تمـــتص عـــصارة اللحـــاء (Peumans et al., 1997) .

GNA كان اللكتين الأول الذي وجد أنه يؤثر على نمو وتطور الحـــشرات الماصـــة للعصارة وقد درست تأثيراتها الابادية على الحشرات بالتفصيل . أظهـــرت العديـــد مـــن التجارب التى أجريت على البيئات المغذية الصناعية أن لكتين نبات اللـــبن الثلجيـــة ذات تأثيرات ضارة على تطور وتكاثر الآفات متجانسة الأجنحة التى تنتمى إلى عائلـــة المـــنّ وعائلات Cicadelidae , Delphacidne فى نفس الوقت أكدت الدراسات التى أجريت على النباتات المهندسة وراثياً الدخان والقمح والبطاطس والأرز علـــى النـــشاط الابـــادى

للحشرات للكتينات المرتبطة مع GNA من رتبة متجانسة الأجنحة (المنّ) وأوضحت أن التعبير الخارجي Ectopically للـ GNA ذات تأثيرات مدمرة على المن ونطاطات الأوراق . بالإضافة إلى متجانسة الأجنحة فإن GNA يحدث تأثيرات فعالة وضارة في كلا البيئات المغذية الصناعية والنباتات المهندسة وراثياً على نمو وتطور يرقات حرشفية الأجنحة بما فيها فراشة الطماطم وثاقبة الأرز المكسيكية وثاقبة قصب السكر ودودة اللوز الأمريكية .

ولو أن GNA بالتأكيد بروتين مبشر جداً فى إبادة الحشرات إلا أن مجهودات كثيرة تبذل لتعريف البدائل المتميزة داخل عائلة اللكتين . أظهر التحليل المقارن أن بعض اللكتينات المرتبطة مع GNA فى نباتات العائلة Alliaceae أكثر كفاءة من GNA نفسه في نواحي النشاط الخاص للأجلوتينية . ولو أن البعض قد يفترضون أن النشاط الابادى ضد الحشرات للـ GNA واللكتينات المرتبطة به يرتبط لحد ما بالنشاط المرتبط بالسكر / التخصصية فإنه يبدو من الضرورى الكشف عما إذا كانت بعض اللكتينات المرتبطة مع GNA مبشرة كمبيدات حشرية فعالة . على امتداد السنوات القليلة الأخيرة أظهرت العديد من الدراسات أنه ليس GNA فقط ولكن العديد من اللكتينات المرتبطة – GNA أيضاً لها تأثيرات ضارة محسوسة على الحشرات الماصة للعصارة وكذلك بعض الديدان . على سبيل المثال فإن التقييم الحيوى مع البيئات المغذية الصناعية أظهرت أن لكتين أوراق الثوم ASAL كانت عالية السمية لآفات نصفية الأجنحة N.Virescens , N. lugeres . تحليل نباتات الدخان والخردل المهندسة وراثياً التى تعبر عن ASAl أظهر خفض فى بقاء وخصوبة هذه الحشرات (المنّ) التى تتغذى على العصارة . كذلك أوضح Sadeghi et al., (2008) أن نباتات الدخان المهندسة وراثياً التى تعبر عن ASAll , ASAL خفضت بشكل كبير الوزن الذى تكسبه يرقات دودة ورق القطن . اللكتينات تؤخر من تطور اليرقات وتضر بطور العذراء حيث يقل الوزن وتحدث تشوهات قاتلة . لقد كان نسبة الموت ١٠٠% مع ASAL بالمقارنة بنسبة ٦٠% مع ASALL .

اللكتينات المرتبط بالجاكالين

أظهرت تجارب التغذية على البيئات المغذية الصناعية أن لكتينات بذور عائلة Moraceae لها صفات مضادة للحشرات . كمثال فإن لكتين Maclura pomifera أظهر تأثير تثبيطى كبير على يرقات سوسة البسلة . على نفس المنوال فإن الجاكالين ولكتين M.Pomifera يثبط نمو يرقات دودة جذور الذرة الجنوبية . يؤثر الجاكالين كذلك على بقاء نطاط أوراق البطاطس . بناء على هذه الملاحظات يبدو أن لكتينات بذور العائلة التوتية المرتبطة بالجالاكتوز لها وظيفة دفاعية ضد الحشرات . فى الوقت الحالى يوجد قليل من المعلومات حول دور اللكتينات المرتبطة بالمانوز مع الجاكالين . لقد أوضح

(Chang et al., 2003) أن أجلوتينين نباتات H. tubero يحقق المقاومة لمنّ البطاطس والخوخ . متوسط مجموع المنّ على النباتات المهندسة وراثياً التى تعبر جين اللكتين تناقصت بحوالى ٥٣ – ٧٠% بالمقارنة بالمجاميع الضابطة العادية خلال ١١ يوماً للتقييم الحيوى . بالإضافة إلى ذلك فإنه لوحظ تأخير نمو مجاميع المنّ مما أدى إلى الاقتراح بأن جين اللكتين هذا قد يكون مدخل آخر للهندسة الوراثية للنباتات لتحقيق المقاومة ضد الآفات الحشرية متجانسة الأجنحة (Chang et al., 2003) .

لكتينات البقول

العديد من بذور البقوليات تحتوى على تركيزات عالية من اللكتينات . لقد أقترح أنه تحت الظروف العادية فإن هذه اللكتينات تعمل مثل بروتينات تخزين الجنيوين . هذا ولو أنه بمجرد أكل النبات فإن اللكتينات تنتهى فى القناة الجوفمعوية للمفترس وتعمل كبروتينات دفاعية . بعض لكتينات البقول أظهرت سمية للحشرات حيث تتداخل مع تطور الحشرة عندما تختبر خارج الجسم . كمثال أجلوتينين الفول السودانى المرتبط بالجالاكتوز وكذلك لكتين البذور الأساسى من الفول المجنح أظهر تأثير مثبط على تطور يرقات سوسة البسلة . على نفس المنوال فإن لكتين B. purpurea قاتل لليرقات حديثة الفقس لحشرة O.nubilalis وتثبط نمو يرقات D. undecimpuactata حديثاً أتضح أن لكتين أوراق B.monadra تسبب ٥٠% موت لحشرات C.maculatus و Z.subfasciatus عندما يوضع فى الغذاء الصناعى بمعدل ٠,٥% ، ٠,٣% (وزن / وزن) على التوالى ولكنها لا تخفض بشكل كبير بقاء الحشرة A.kuehniella عند تركيز ١% (وزن / وزن) . لكتينات الفول الأفريقى يؤثر على بقاء الحوريات حيث يخفض النمو ويؤخر وقت التطور الكامل للحشرة C.tomeatosiotollis مما يؤدى إلى حدوث سمية شاملة شديدة . وضع ن – أسيتيل جلوكوسامين – لكتين GS- 11 من أوراق وبذور نبات G.simplicifolia فى الغذاء الطبيعى ضاعفت من وقت تطور سوس البسلة . على نفس المنوال فإن لكتين ذات – أسيتيل جلوكوسامين من K.paniculata أثرت على تطور اليرقات C.maculatus وكذلك A. kuehniellu (Macedo et al., 2003) .

تأثيرات اللكتين الخاص Man / Gle من نباتات C.ensiformis (Cancanavalin A , Con A., Jackbem) اختبرت على الآفات الزراعية من رتبتى حرشفية ومتجانسة الأجنحة . عندما تغذى ليرقات فراشة الطماطم فى البيئة المغذية الصناعية فإن ConA تؤخر التطور وتقلل من البقاء حتى ٩٠% موت عند تركيز لكتين ٢% (وزن / وزن) للبروتين الكلى فى الغذاء الصناعى . فى الغذاء الصناعى السائل فإن ConA تخفض كذلك من حجم منّ الخوخ حتى ٣٠% وتؤخر التطور والنضج وتقلل من الخصوبة ولكن لها تأثير قليل على البقاء . التقييم الحيوى مع L.oleracea لليرقات

على نباتات البطاطس التى تعبر عن ConA أظهرت أن اللكتين يؤخر تطـور اليرقـات ويقلل من وزن اليرقات بمقدار أكبر ٤٥% وليس لها تأثير كبير على البقاء . ينقص كذلك استهلاك أنسجة النبات بواسطة اليرقات . فى توافق مع نتائج التقييم الحيوى للغـذاء فـإن البطاطس التى تعبر عن ConA تخفض كذلك من خصوبة منّ الخوخ حتى ٤٥% . لذلك فإن ConA فعال كمادة وقائية ضد الآفات الحشرية فى النباتـات المهندسـة وراثيـاً (Gatehouse et al., 1999) .

الاختبارات على النباتات المهندسة وراثياً أظهرت أن نباتات الدخان التى تعبر عـن جين لكتين البسلة زادت من المقاومة ضـد دودة اللـوز الأمريكيـة (Boulter et al., 1990). بالإضافة إلى ذلك فإن نبات شلجم الزيت المتحولة وراثياً التى تعبر عن لكتـين البسلة تقلل من معدل نمو يرقات خنفساء حبوب اللقاح M.aeneus . لقد لوحظ ارتبـاط سالب بين تركيز اللكتين ونمو اليرقات .

ولو أن بعض التقارير القديمة أشارت إلى سمية لكتين الفول PHA (مع تخصصية معقدة) للحشرات فإن الباحث (1990) ,.Murdrck et al أظهر بوضوح أن PHA غير سام على سوسة البسلة وأن التأثيرات السامة التى سجلت فى السابق كانت بـسبب تلـوث تحضيرات اللكتين بمثبط الالفا – أميليز . لقد أتضح حقيقة أنه من خلال كلا التقييم الحيوى فى خارج الجسم والنباتات المتحولة وراثياً أن البروتينات المرتبطة باللكتين مـن الفـول والمسماه الفا – أميليز والأركيلين ما هى إلا بروتينات فعالة ضد الحشرات عـن اللكتـين نفسه . كمثال فإن المستويات المنخفضة من مثبط الالفا – أميليز فى غذاء الفـول أحـدث بتثبيط كبير فى نمو اليرقات من الحشرات التى تفترس البذور مثل سوس البسلة وغيرها . بالإضافة إلى ذلك فإن بذور البسلة التى تعبر عن الفا – أميليز الفول اكتسبت مقاومة ضد سوس البسلة والفول . هذا ولو أن هذا البروتينات المرتبطة باللكتين ترتبط نشوئياً بلكتـين جينوين من الفول ولكنها لا ترتبط بالكربوهيدرات (Osborn et al., 1988) .

أساس اللكتينات مع ريسيس B- : ولو أن دور اللكتينات مع أساس ريسين B- لـم تفهم بعد بشكل كامل فإنه يوجد اعتقاد متنامى بأن هذه البروتينات تلعب دوراً فى الـدفاع ضد بعض الفيروسات والفطريات . ولكن القليل جداً من البحوث توجهت نحو دراسة تأثير هذه اللكتينات على الحشرات . هذا ولو أنه فى السنوات الحديثة تراكمت الأدلة لاقتـراح دور للبروتينات التى تعطل الريبوسوم فى حماية النباتات ضد الحشرات . كمثال فإن سمية سينامومين من النوع RIP 2 من نبات سينامومٍ كامفورا لوحظت تجاه ديدان لوز القطـن وبعوض الكيوليكس وكذلك يرقات دودة الحرير . حديثاً تمت الإشارة إلى النشاط الابـادى ضد الحشرات للنوع RIP -2 من اللب . لقد أظهر RIP اللب نشاط تجاه كل مـن مـنّ الدخان ودودة الورق الصغيرة عندما عبر عنه فى الدخان .

٥- آكلات النبات الحشرية التى تحفز تعبير بعض اللكتينات فى النباتات

تعبير اللكتين المحفز بالجسمونات فى أوراق الدخان استجابة للعديد من العوامل الحيوية واللا حيوية درس باستفاضة . من بين جميع الهورمونات النباتية التى درست كان حامض الجسمونيك فقط هو القادر على تحفيز تعبير لكتنين (١٥ – ٢٠ مللجم / جم ورق بعد ٣ أيام من الطفو على محلول الجسمونات ٥٠ ميكرومول) . هذا ولو أن الجروح لا تحفز تعبير اللكتين . حيث أن الجسمونات عبارة عن جزيئات إشارية هامة فى دفاع النبات ضد آكلات الأوراق كما أن آكلات النباتات وتأثيراتها درست فى نباتات الدخان النامية فى الصوب بعمر ١٦ أسبوع . تم عدد الأوراق بيرقات دودة ورق القطن مما أدى إلى زيادة فى تركيزات الجسمونات فى الورقة والتى تحفز تعبير الكيتين بدورها (١٥٠ – ٢٠٠ ميكروجرام / جم ورقة) . عندما سمح لليرقات بالتغذية على ورقة فردية لوحظ حدوث تحفيز جهازى لنشاط اللكتين فى جميع الأوراق من النبات . أظهرت التجارب الأولية كذلك أن لكتين الدخان يظهر تأثير طارد على الحشرات القارضة .

لقد أشار Zhu-Salzman et al., (1998) فى السابق أن تعبير لكتين G.simplicifolia II(GSII) المرتبط مع GlcNAc فى الأوراق يكون جهازيا (وليس موضعياً عند مكان المعاملة) حيث تنظم جيداً بعد الجرح وكذلك بواسطة المعاملة بحمض الجسمونيك . على نفس المنوال فإن هجوم الحشرات تنظم بشكل كبير تعبير GS – 11 فقط فى الأوراق الجهازية وليس فى الأوراق الموضعية . على العكس فى لكتين الدخان والذى يمكن الكشف عنه فقط بعد التحفيز حيث أن لكتين جريفونيا يعبر تركيبياً عند مستويات منخفضة ولكنها يمكن الكشف عنها فى نسيج الورقة .

لقد أتضح أن نباتات القمح تستجيب كذلك للحشرات مع تعبير جينات اللكتين (Williams et al., 2002) تغذية يرقات العمر الأول للطرز الحيوية الخاصة من ذبابة هيشيان على القمح سببت تغيرات فى تعبير العديد من النسخ عند موضع التغذية بما فيها mRNA للجين Hfr -1 وهو لكتين مرتبط بالمانوز . لقد تمت الإشارة كذلك إلى أن تعبير الجين Hfr -1 يحفز كذلك بواسطة حمض السالسيليك أظهر التحليل المتتابع أن أساس الكربون الطرفى لجينات Hfr -1 يقلل أو يطرح تتابع الحمض الأمينى ويظهر تشابه فى التتابع مع اللكتينات المرتبطة بالجاكالين .

حديثا قام (Puthoff et al., 2005) بتعريف جينات Hfr -2 و Hfr -3 واثنان آخران من جينات القمح المستجيبة لذباب هيشيان فى القمح التى تحتوى على أساس اللكتين المشابه للهيفين والأمارانثين على التوالى . إصابة القمح بيرقات هيشيان العنيفة أدت إلى حدوث تنظيم فائق لتعبير جين Hfr -2 بحوالى ٨٠ مرة بالمقارنة بعدم الإصابة . التحليل المتتابع لجين Hfr -2 أظهر أساس اللكتين ذات الكربون الطرفى مشابه لالتحام الأمارانتين

لمنطقة لكتينات تحلل الدم وقنوات تكوين التوكسينات . تعبير جين 2- Hfr ينظم بدرجة كبيرة بواسطة المعاملة بالمثيل جسمونات وأن تغذية اللحاء بواسطة منّ الشوفان والدودة القارضة حيث أن الجروح وحمض الساليسيليك وحمض الأبسيسيك ذات تأثر قليل . مستويات mRNA للجين 3- Hfr مع أربعة أسس متنبأ بهم من الهيفين المرتبط بالكيتين اتضح أنه يزداد حوالى ٣٠٠ مرة أعلى مما هو الحال مع المقابلة فى تداخل غير متوافق بعد ٣ أيام من فقس بيض ذباب هيشيان . حيث أن m RNA وفرته لجين Hfr-3 تعتمد على عدد اليرقات لكل نبات مما أدى الاقتراح بأن المقاومة موضعية أكثر منها جهازية . جين Hfr يستجيب كذلك لمنّ الشوفان ولا يستجيب للدودة القارضة . المعاملة بالجسمونات وحمض السالسيليك وحمض الأبسيسيك أو الجروح لا تؤثر على تعبير الجين 3- Hfr . جميع هذه الدراسات أدت إلى الاقتراح بأن حزمة من اللكتينات تشترك فى مقاومة القمح لذباب هيشيان .

٦- كيفية إحداث الفعل Mode of action

٦-١- اللكتينات التقليدية

كما ذكر قبلاً فإن لكتينات النبات تشمل جميع بروتينات النبات التى ترتبط عكسياً مع أحادى أو أوليجو سكريات خاص . اللكتين التقليدى عديد التكافؤات ومن ثم يكون قادراً على الوزن أو تكتل الخلايا . على امتداد العقود الزمنية الماضية والأخيرة تم بلورة العديد من لكتينات النبات ودراسة التراكيب ثلاثية الأبعاد لها وفى الغالب فى تعضيد مع الكربوهيدرات المكمل . أسفرت هذه الدراسات التركيبية عن الحصول على كم هائل من المعلومات القيمة عن التداخل مع موقع اللكتينات النباتية المرتبط بالسكر مع الكربوهيدرات والجليكوبروتينات . لقد أتضح أنه داخل عائلة معينة من اللكتينات تحدث تراكيب ثلاثية الأبعاد متشابهة جداً حتى ولو كانت هناك اختلافات واضحة فى التخصص داخل عائلة لكتين خاصة . من الاعتقاد الشائع أن التداخل الخاص للكتين مع الكربوهيدات يكون على المستوى الجزيئى لتحقيق الفاعلية فى دفاع النبات . بالإضافة إلى ذلك يكون من الواضح أن تخصصية لكتينات النبات لا توجد ضد السكريات البسيطة ولكن ضد كربوهيدرات أكثر تعقيداً مثل U , N – جليكانات توجد على العديد من الجليكوبروتينات . معظم اللاكتينات التقليدية تميز بوجه متخصص الجليكانات الحيوية التقليدية (مثل حمض سياليك و GalNAc تحتوى على O- , N أوليجو سكريات مرتبطة) والتى توجد بوفرة على سطح الخلايا الطلائية المعرضة على امتداد القناة المعدية للحيوانات الراقية والدنيئة . حيث أن هذه الجليكانات ضرورى إضافتها مع بروتينات الغذاء التى تمثل مواقع ارتباط مؤثرة للكتينات النبات الغذائية . إذا حدث ارتباط مع هذه المستقبلات يؤدى إلى تأثيرات معاكسة حيث يحدث اللكتين تأثيرات ضارة أو سامة . تجارب التغذية مع الحشرات والحيوانات الكبيرة أكدت أن بعض لكتينات النبات تظهر تأثيرات سامة تتراوح من عدم

راحة خفيفة وحتى تسمم يؤدى للموت والتى تترك قليل من الشك بأن اللكتينات تلعب دور حقيقى فى دفاع النبات ضد الحشرات و / أو الحيوانات المفترسة . فى هذا الخصوص فإن النشاط الابادى ضد الحشرات للكتينات المرتبطة – GNA فى توافق مع ارتباطها المفضل مع سلاسل الجليكان من النوع عالى المانوز وهــى مكونــات تقليديــة لجليكوبروتينــات الحشرة.

فى الوقت الراهن فإن معلوماتنا عن ميكانيكية فعل لكتينات النبات مازالت محدودة . العديد من أنواع التداخلات يمكن وجودها داخل جسم الحشرة : لكتينات النبــات خاصــة الليكتينات المرتبطة بالكيتين والتى تستطيع التداخل مع مادة الكيتين للغشاء حول الغــذائى Peritrophic membrane . بالإضافة لأى كيفية آخر مع موقع مرتبط بالكربوهيــدرات يتكامل مع مقترنات الجليكو فى الغشاء حول الغذائى أو المعرضة على طول سطح الخلية الطلائية للمعى الأوسط ويمكن أن ترتبط مع هذه التراكيب للكربوهيدرات فى النهاية يمكن تصور أن ارتباط اللكتين لبعض إنزيمات الجليكولات / البروتينات يمكن أن تتداخل مــع العمليات الخلوية الهامة لتأدية الوظيفة العادية للكائن (Czapla , 1997) .

فى حالة اللكتينات المرتبطة بالكيتين فإن التأثير الضار على الحشرات قيل أنه يرجع إلى تلف الغشاء حول الغذائى بعد الارتباط المكثف للكتين على الكيتين الموجود فى هــذا التركيب الخاص (Lehane , 1977) . من الممكــن وجــود مواقــع مــستهدفة أخــرى (البروتينات و / أو الأوليجو سكريات) فى جسم الحــشرة (مثــل النــسيج الــدهنى ، الهيموليمف ، أعضاء التناسل) . الغشاء حول الغذائى يتكون من مجمع أليــاف الكيتــين والبروتينات ويوجد كمظروف فى جدار معدة الحشرة والتى تقدم حماية طبيعيــة للخلايــا الطلائية . هذا الغشاء له دور هام كذلك فى تقسيم إنزيمات الهضم إلى جزيئــات . مــن الأوقع ميلاً أن اللكتينات المرتبطة بالكيتين يمكن أن ترتبط مع الغشاء حول الغذائى يكون لها تأثيرات متنوعة مما يؤدى إلى تجويع ثم موت الحشرة فى النهاية . لقد تأكــدت هــذه الفرضية بواسطة Harrpea et al., (1998) الذى أوضح أن مورفولوجية الغشاء حــول الغذائى لثاقبة الذرة الأوربية تغيرت خلال ٢٤ ساعة من التغذية على غذاء WGA . على العكس مع يرقات المقارنة فإن اليرقات التى تغذت على WGA أظهــرت غــشاء حــول غذائى متعدد الطبقات وغير متميز مع قطع من الخملات الدقيقة غير المتكاملة وجسيمات طعام مغروسة وبكتريا . بعد ٧٢ ساعة فإن الغشاء حول الغذائى لليرقات المغــذاة علــى WGA كانت متعددة الطبقات وغير متصلة بما يسمح بقطع جدار الخليــة بالنفــاذ فــى الخملات الدقيقة للغشاء الطلائى . أظهر الفحص بالميكروسكوب الالكترونى عدم اتــصال شبكة اللكتين وخفض مادة البروتين .

لا يوجد ارتباط واضح بين تخصــصية اللكتــين والــسمية ولكــن الارتبــاط مــع الجليكوبروتينات فى المعى الأوسط للحشرة يبدو أنه مطلب مسبق لأى تــأثير ســام مــن

اللكتينات (Czaple , 1997) . التجارب على لكتين G.simplicifolia (GS – 11) كمثال أظهر ارتباط واضح بين ارتباط الوسيط والسمية تجاه حشرة البسلة C.maculutus. بالإضافة إلى ذلك فإن اللكتينات التى تسبب موت كبير أو خفض فى وزن الجسم فى حشرة O.nubilalis حيث ترتبط كذلك بشدة مع الفعل الابادى ضد الحشرات ومن ثم فإن ارتباط اللكتين ليس مقياس مطلق للتنبؤ بالسمية .

أتضح أن اللكتينات المرتبطة بالمانوز تتداخل مع مستقبلات الجليكولات فى المعى الأوسط للحشرة . من بين المستقبلات الكبرى لجين GNA فى N.lugens حيث تم تعريفها كتحت وحدت الفيرتية مما أدى إلى الاقتراح بأن جين GNA قد يتداخل مع تمثيل الحديد فى الحشرة (Du et al., 2000) . أتضح أن ConA يتداخل مع مستقبلات الجليكولات عند سطح الخلية وأحدها تم تعريفه أخيراً علىأنه أمينوببتيداز فى Acyrtho siphom pisum فى حالة لكتين ورقة الثوم ASAL أتضح الارتباط مع جزء الكربوهيدرات فى بروتينات مستقبلات حويصلات الغشاء الخارجي للفرشة ذات 55 KDc on.d45 فى منّ الخردل وبق القطن الأحمر على التوالى . لقد أقترح أن ارتباط ASAL لهذه المستقبلات قد يقلل من نفاذية الغشاء كما هو واضح مع جينات اللكتينات المرتبطة بالمانوز و ConA الى تقلل من صعود وامتصاص المواد المغذية فى منّ البطاطس (Sauvion et al., 1996) .

بالإضافة لارتباط اللكتين مع بعض تراكيب / الكربوهيدرات فى الحشرة فإن المطلب المسبق الثانى لإحداث النشاط الابادى على الحشرات يتمثل فى مقاومة اللكتين للانهيار بسبب تحلل البروتين أشار (Zhu – Salzman et al., 1998) إلى ارتباط جيد بين النشاط المضاد الحشرى للكتين GS – 11 الخاص للجريفونيا G1 cNAc ومقاومة للانهيار بالتحلل البروتينى بواسطة مستخلصات المعى الأوسط لحشرة C.meculatus . التجارب على بروتينات الطفرة ناقصة الكربوهيدرات والنشاط الابادى على الحشرات أظهرت أن هذه البروتينات تهضم بسرعة بواسطة بروتيزيس الهضم فى المعدة . على نفس المنوال أتضح أن اللكتينات المرتبطة بالمانوز والجينات GNA , ASLA تظل ثابتة وتديم معدة الحشرة .

من المثير للاهتمام ما أظهره Fitches and Gatehouse (1998) من أن ارتباط الجين GNA , ConA لإنزيمات فرش الغشاء الذائبة فى معدة الحشرة L.Oleracea والتى تؤثر على أنشطة الإنزيمات الذائبة فى غشاء الفرشة . أوضح التقييم الحيوى على المدى القصير أن كلا جينات GNA , ConA زادت من مستويات بروتينات المعدة ونشاط الأمينوببتيداز فى الغشاء . اللكتينات تزيد كذلك من نشاط التربسين فى المعدة (ConA) والبراز (GNA) . جين GNA تزيد كذلك من نشاط الألفا – جلوكوسيديز

ولكن اللكتين لا يؤثر على نشاط الألكالين فوسفاتيز . التقييم الحيوى على المدى الطويل لوحظ خفض فى نشاط الألفا جلوكوسيديز مع كلا اللكتينات ولكن لم يسجل أى تغيير مع أنشطة الإنزيمات الأخرى .

أظهرت التجارب على الفئران أنه فى بعض الحالات عدم الراحة الواضحة التى تتسبب من تناول اللكتينات والتى أظهرت أن حيوانات التجارب ترفض الاستمرار فى التغذية على الغذاء المحتوى على اللكتين مما يوضح تأثير مانع للتغذية . فى السنوات الأخيرة أجريت دراسات على السلوك مع الحشرات لمعرفة ما إذا كان هناك إعالة حسية لنشاط اللكتين وتأثيرات اللكتين على سلوك الحشرة . لقد سجل نقص فى كمية الندوة العسلية التى تفرز مع بعض اللكتينات مثل GNA ولكتين البوسفوكاربن مما أدى إلى الاقتراح بأن هذه اللكتينات كمادة مانعة للتغذية .

٦-٢- اللكتينات المحفزة

النباتات ذات ميكانيكيات دفاعية محفزة ذات تراكيب مختلفة عند التخلص منها لحماية نفسها ضد هجوم الحشرات . النظم المحفزة التى يعتقد أنها أكثر دوماً على المدى الطويل تلعب دوراً هاماً فى المقاومة وتؤدى إلى تأثيرات مختلفة على الحشرات ملتهمة النباتات كما فى أحداث السمية العالية وتأخير تطور الحشرات أو زيادة الحساسية للأعداء الطبيعية.

على امتداد السنوات القليلة الماضية أصبح من الواضح أن مسار الجسمونات يلعب دوراً هاماً فى مقاومة النبات ضد مدى عريض من آكلات النباتات الحشرية . خلال ٣ – ٥ ساعات بعد هجوم الحشرة لنباتات أرابيدوبسيس فإن مستويات تعبير المئات من تغير النسخ سجلت . لقد خلص Reymond et al., 2004 بأن تعبير ٦٧% – ٨٤% لهذه البروتينات يسيطر عليه بواسطة مسار الجسمونات . فى الوقت الحالى لا يعرف كيف أن لكتين الدخان المحفز بالجسمونات تحدث تأثيرها الابادى ضد الحشرات . هناك وضوح بأن نظام الدفاع بناء على اللكتينات (المحفزة) كما تتعاظم بواسطة لكتين الدخان تختلف عن بروتينات الدفاع الأخرى المعروفة مثل مثبطات البروتينيز . مثبطات البروتينيز هذه معروف أنها تحقق تأثيرها خلال وقف نشاط إنزيمات الغذاء وعلى عكس لكتين الدخان المحفز والتى تحفز بمدى كامل من عوامل الإجهاد (مثل الجروح ، العدوى بالممرضات ، هجوم الحشرات) المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية أو حامض ساليسيليك .

References

Agrawal AA (2003) Mechanisms, ecological consequences and agriculture implications of tritrophic interactions. Curr Opin Plant Biol 3:329-335

Bandyopadhyay S, Roy A, Das S (2001) Binding of garlic (Allium sativum) leaf lectin to the gut receptors of hompteran pests is correlated to its insecticidal activity. Plant Sci 161:1025-1033

Bourne Y, Astoul CH, Zamboni V, Peumans WJ, Menu-Bouaouiche L, Van Damme EJM, Barre A, Rough P (2002) Structural basis for the unusual carbohydrate-binding specificity of jacalin towards galactose and mannose. Biochem J 364:173-180

Christou P, Capell T, Kohli A, Gatehouse JA, Gatehouse AMR (2006) Recent developments and future prospects in insect pest control in transgenic crops. Trends Plant Sci 11:302-308

Czapla TH, Lang BA (1990) Effect of plant lectins on the larval development of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). J Econ Entomol 83:2480-2485

Down RE, Fitches EC, Wiles DP, Corti P, Bell HA, Gatehouse JA, Edwards JP (2006) Insecticidal spider venom toxin fused to snowdrop lectin is toxic to the peach-potato aphid, Myzus persicae (Hemiptera: Aphididae) and the rice brown planthopper, Nilaparvata lugens (Hemiptera: Delphacidae). Pest Manag Sci 62:77-85

Eisemann CH, Donaldson RA, Pearson RD, Cadogan LC, Vuocolo T, Tellam RL (1994) Larvicidal activity of lectins on Lucilia cuprina – Mechanism of action. Entomol Exp Appl 72:1-10

Fitches E, Audsley N, Gatehouse JA, Edwards JP (2002) Fusion proteins containing neuropeptides as novel insect contol agents: snowdrop lectin delivers fused allatostatin to insect haemolymph following oral ingestion. Insect Biochem Mol Biol 32:1653-1661

Gfeller A, Farmer EE (2004) Keeping the leaves green above us. Secience 306:1515-1516

Gupta GP, Birah A, Rani S (2005) Effect of plant lectins on growth and development of American bollworm (Helicoverpa armigera). Indian J Agric Sci 75:207-212

Habibi J, Backus EA, Czapla TH (1993) Plant lectins affect survival of the potato leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). J Econ Entomol 86:945-951

Huesing JE, Murdock LL, Shade RE (1991) Effect of wheat germ isolectins on development of cowpea weevil. Phytochemistry 30:785-788

Ishimoto M, Sato T, Chrispeels MJ, Kitamura K (1996) Bruchid resistance of transgenic azuki bean expressing seed alpha-amylase inhibitor of common bean. Entomol Exp Appl 79:309-315

Kessler A, Baldwin IT (2002) Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. Ann Rev Plant Biol 53:299-328

Lehane MJ (1997) Peritrophic membrane, structure and function. Ann Rev Entomol 42:525-550

Majuumder P, Mondal HA, Das S (2005) Insecticidal activity of Arum maculatum tuber lectin and its binding to the glycosylated insect gut receptors. J Agric Food Chem 53:6725-6729

Musser RO, Hum-Musser SM, Eichenseer H, Peiffer M, Ervin G, Murphy JB, Felton GW (2002) Caterpillar salvia beats plant defenses. Nature 416:599-600

Noghabi SS, Van Damme EJM, Smagghe G (2006) Bioassays for insecticidal activity of iris ribosome-inactivating proteins expressed in tobacco plants. Commun Agric Appl Biol Sci 71:285-289

Osborn TC, Alexander DC, Sun SSM, Cardona C, Bliss FA (1988) Insecticidal activity and lectin homology of arcelin seed protein. Secience 240:207-210

Parret AH, Schoofs G, Proost P, De Mot R (2003) Plant lectin-like bacteriocin from a rhizosphere colonizing Pseudomonas isolate. J Bacteriol 185:897-908

Peumans WJ, Hao Q, Van Damme EJM (2001) Ribosome-inactivating proteins from plants: more than RNA N-glycosidases? FASED J 15:1493-1506

Powell KS (2001) Antimetabolic effects of plant lectins towards nymphal stages of the planthoppers Tarophagous proserpina and Nilaparvata lugens. Entomol Exp Appl 99:71-77

Rinderle SJ, Goldstein IJ, Matta KL, Ratcliffe RM (1989) Isolation and characterization of amaranthin, a lectin present in the seeds of Amaranthus caudatus, that recognizes the T-(or cryptic T)-antigen. J Biol Chem 264:16123-16131

Sabins DD, Hart JW (1978) The isolation and some properties of a lectin (haemagglutinin) from Cucrbita phloem exudates. Planta 142:97-101

Sharma HC, Sharma KK, Crouch JH (2004) Genetic transformation of crops for insect resistance: potential and limitations. Crit Rev Plant Sci 23:47-72

Stripe F (2004) Ribosome-inactivating proteins. Toxicon 44:371-383

Tsutsui S, Tasumi S, Suetake H, Suzuki Y (2003) Lectins homologous to those of monocotyle-donous plants in the skin mucus and intestine of pufferfish, Fugu rubripes. J Biol Chem 278:20882-20889

Van Damme EJM, Barre A, Rough P, Peumans WJ (2004). Cytoplasmic/nuclear plant lectins: a new story. Trends Plant Sci 9:484-489

Vandenbussche F, Peumans WJ, Desmyter S, Proost P, Ciani M, Van Damme EJM (2004b) The type-1 and type-2 ribosome-inactivating proteins from Iris confer transgenic tobacco plants local but not systemic protection against viruses. Planta 220:211-221

Wei GQ, Liu RS, Wang Q, Liu WY (2004) Toxicity of two type II ribosome-inactivating proteins (cinnamomin and ricin) to domestic silkworm larvae. Arch Insect Biochem Physiol 57:160-165

Wu J, Luo X, Guo H, Xiao J, Tian Y (2006) Transgenic cotton, expressing Amaranthus caudatus agglutinin, confers enhanced resistance toaphids. Plant Breed 125:390-394

Young NM, Oomen RP (1992) Analysis of sequence variation among legume lectins. A ring of hypervariable residues forms the perimeter of the carbohydrate-binding site. J Mol Biol 228:924-934

Zhou X, Li XD, Yuan JZ, Tang ZH, Liu WY (2000) Toxicity of cinnamomin – a new type II ribosome-inactivating protein to bollworm and mosquito. Insect Biochem Mol Biol 30:259-264

Zhu-Salzman K, Shade RE, Koiwa H, Salzman RA, Narasimhan M, Bressam RA, Hasegawa PM, Murdock LL (1996) Carbohydrate binding and resistance to proteolysis control insecticidal activity of Griffonia simplicifolia lectin II. Proc Natl Sci USA 95:15123-15128

ثانياً : المواد العطرية المتطايرة ودورها فى دفاع النبات

Aromatic Volatiles and Their Inovlvement in Plant Defense. Anthony V. Qualley and Natalia Dudareva

أكثر من ١% من نواتج التمثيل الثانوية تمثل بواسطة المركبـات المتطـايرة التـى تشترك فى تكاثر ودفاع النبات . حوالى ٢٠% من هذه الحزمة المتطايرة عبـارة عـن مكونات عطرية تتكون من الفينيل بروبانويدز والبنزينويدز والفينيـل بـروبين والمـواد العطرية المحتوية على النتروجين . بالرغم من التنوع العريض للمركبات العطرية فـإن عدد صغير فقط هو الذى يتحرر وينطلق وفى الغالب على مستويات منخفـضة اسـتجابة لهجوم أنواع الحشرات الآكلة للنباتات . كميات متناثرة من المعلوماتية أظهرت أن المـواد المتطايرة العطرية لها أدواراً فى تنافر وسمية الكائنات المهاجمة وكذلك فى جذب أنـواع الحشرات النافعة التى تكافح وتسيطر على مجاميع الحشرات خلال الافتراس والتطفـل . فى هذا المقام سوف نستعرض المعلومات الجارية بالنظر للتخليق الحيوى للمواد المتطايرة العطرية التى تنبعث من النباتات وكذلك دورها فى التداخلات بين النبات والحشرة وكذلك بين النبات والنبات وسوف نحاول إلقاء الضوء عن التساؤلات الكبيرة فى محاولة للإجابة عليها .

N. Dudreva
Department of Horticulure and Landscape Architecture , University , West Lafayette , IN 47907 , USA
e-mail : dudareva@purdue.edu
A. Schaller (ed). Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

المركبات المتطايرة تمثل ١% تقريباً من نواتج التمثيل الثانوية النباتية والتى تـشمل وظائفها الأولية دفاع النبات ضد آكلات الأوراق والممرضات . هذه المـواد المتطـايرة عندما تنبعث من أنسجة النبات كجزء من نظام الدفاع يمكن أن تطرد أو تـسمم الكائنـات الغازية وحتى لو كانت تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات وتحمى بشكل غير مباشر النباتات خلال التداخلات ثلاثية التغذية . عند تحرير المواد المتطايرة فإن آكل النبات الذى يتلف النبات يقلل على الفور من عدد غزواته بينما يغير النباتات المجاورة الواقعة تحـت الخطر . فى النباتات المجاورة فإن علامات التحذير تحفز تعبير جينات الـدفاع وتنبعـث المركبات المتطـايرة Birtett et al., 2000 , Arimera et al., 2000 وفـى بعـض الحالات فإن النباتات الأقرب تستجيب أسرع لهجوم آكلى النباتـات . المـواد المتطـايرة

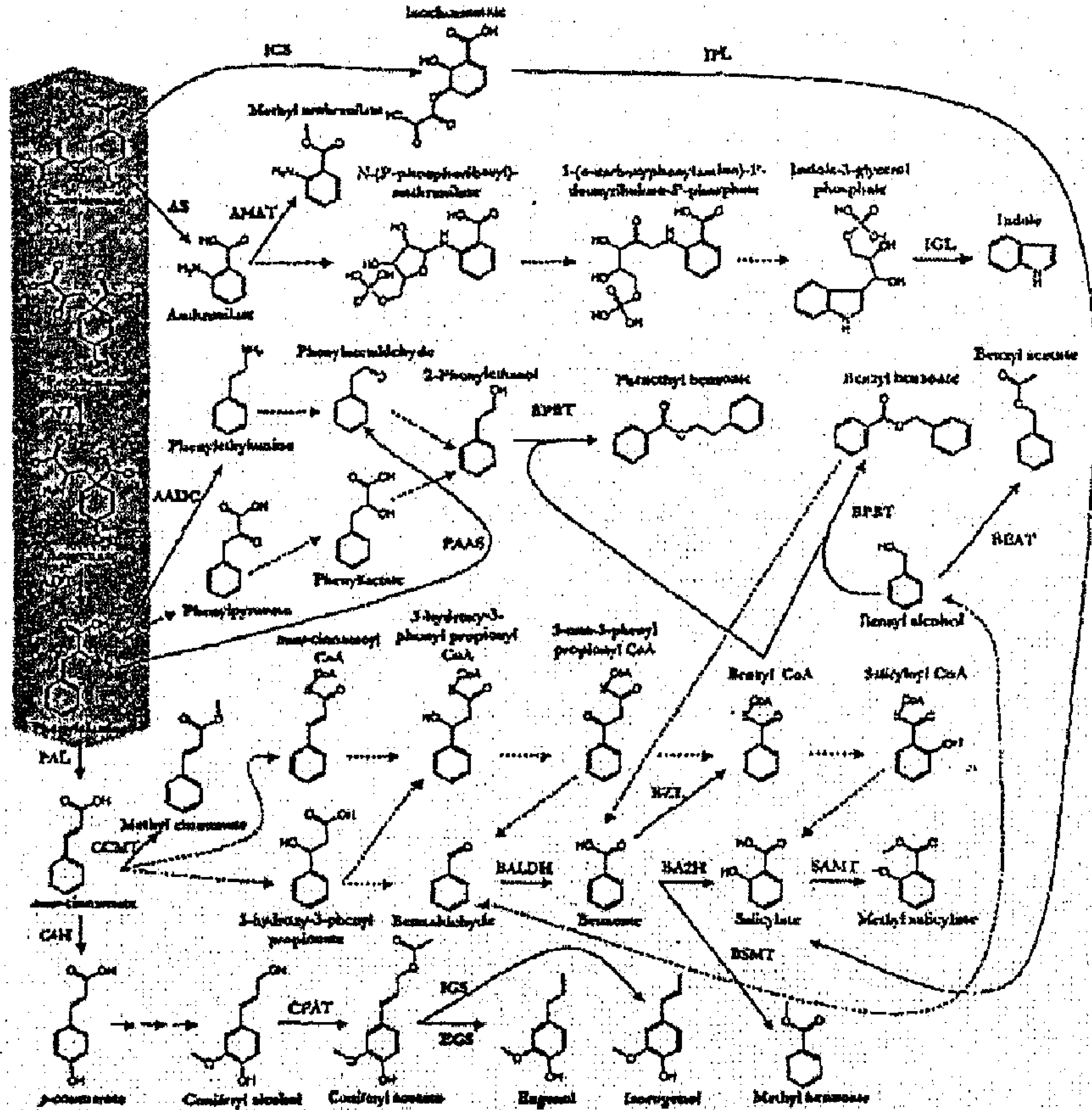
النباتية تمثل أساساً بالتربينويدز ، مشتقات الأحماض الدهنية ومشتقات الأحماض الأمينية بما فيها تلك الناتجة من L – فينيل الانين (phe) والفينيل بروبانويدز والبنزينودز . ولو أن عدد الفينيل بروبانويدز والبنزينويدز النباتية المتطايرة والتى تم تعريفها فى النباتات تقارب التربينويدز إلا أن البحوث الخاصة بمدى مشاركتها فى التداخلات نبات – نبات ونبات – حشرة بعيدة تماماً عن التساوى . فى السنوات العشر الأخيرة حدث بعض التقدم فيما يتعلق بالتخليق الحيوى للمركبات العطرية ولو أنه مازال لا يعرف إلا القليل حول مساهمتها فى دفاع النبات . فى هذا المقام سوف نركز على التخليق الحيوى للمركبات المتطايرة العطرية واشتراكها فى دفاع النبات .

٢ – التخليق الحيوى للمركبات العطرية المتطايرة

٢ –١– الخطوة الأولى فى التخليق الحيوى لغالبية مركبات الفينيل بروبانويدز

البنزينويدز تحفز وتساعد بواسطة إنزيم معروف جيداً واسع الانتشار وهو L – فينيل الانين أمونياليز (PAL) . هذا الإنزيم يساعد فى عملية فقد الأمين لمركب L – فينيل الانين (phe) لإنتاج حامض ترانس – سيناميك . تكوين البنزينويدز (C1 – C6) من حامض السيناميك يتطلب تقصير السلسلة الجانبية بواسطة وحدة C2 والتى اقترحت العديد من المداخل لها (الشكل ٨–١) . هذه العملية تحدث خلال مسار الأكسدة – بيتا – التى تعتمد على CoA ومسار B – أكسدة الذى لا يعتمد على CoA أو خليط من كلا المدخلين . المسار المتفرغ للأكسدة B مرادفة للأكسدة B للأحماض الدهنية وتتقدم خلال تكوين أربعة وسائط من استر Co4 . تقصير السلسلة الجانبية لحامض ترانس سيناميك بواسطة الأكسدة – بيتا اتضح فى الخنازير والدخلة فى تجارب التغذية باستخدام النظير الثابت المشع ($^{2}H6$, O18) ٣– هيدروكسى –٣– فينيل بروبيونيك آسيد والتى انتجت فى

أحماض البنزويك والساليسيليك المعلمة إشعاعياً وليس البنزالدهيد وهو الوسيط الفاتح فى المسار غير الأكسدة بيتا (Jaruis et al , 2000) .



Proposed biosynthetic pathways leading to biosynthesis of volatile aromatic compounds in plants. Solid arrows indicate established biochemical reactions, whereas broken arrows indicate possible steps not yet identified. AADC, amino-acid decarboxylase; ADT, arogenate dehydratase; AMAT, anthraniloyl-coenzyme A (CoA):methanol acyltransferase; AS, anthranilate synthase; BA2H, benzoic acid 2-hydroxylase; BALDH, benzaldehyde dehydrogenase; BEAT, acetyl-CoA:benzyl alcohol acetyltransferase; BPBT, benzoyl-CoA:benzyl alcohol/phenylethanol benzoyltransferase; BSMT, *S*-adenosyl-l-Met:benzoic acid/salicylic acid carboxyl methyltransferase; BZL, benzoate:CoA ligase; C4H, cinnamate 4-hydroxylase; CCMT, *S*-adenosyl-L-Met:coumarate/cinnamate carboxyl methyltransferase; CFAT, acetyl-CoA:coniferyl alcohol acetyltransferase; CM, chorismate mutase; EGS, eugenol synthase; ICS, isochorismate synthase; IGL, indole:glycerol-3-phosphate lyase; IGS, isoeugenol synthase; IPL, isochorismate pyruvate lyase; PAL, L-phenylalanine ammonia lyase; PAAS, phenylacetaldehyde synthase; PNT, prephenate aminotransferase; SAMT, *S*-adenosyl-L-Met:salicylate carboxyl methyltransferase

شكل (٨-١) : مسارات التخليق الحيوى المقترحة التى تؤدى إلى التخليق الحيوى للمركبات العطرية فى النباتات . الأسهم المتصلة توضح التفاعلات البيوكيميائية المستقرة حيث الأسهم المنقطة غير المتصلة توضح الخطوات الممكنة التى لم تعرف بعد . (الإنزيمات المشتركة فى المسارات مكتوبة بالإنجليزية كما هى ....) .

مسار الأكسدة – بيتا التى لا تعتمد على CoA يتضمن مائية حمض ترانس سيناميك الحر إلى ٣- هيدروكسى -٣- فينيل بروبيونيك آسيد وهدم السلسلة الجانبية عبر انقسام

عكسي للألدول مما يؤدى إلى تكوين البنزالدهيد والذى يتأكسد إلى حمض بنزويك بواسطة الإنزيم الذى يعتمد على NADP+ والبنزالدهيد ديهيدروجينيز (BALDH) . الميكانيكية غير الأكسدة – بيتا لتكوين حامض بارا – هيدروكسى بنزويك سجلت باستخدام الدراسات خارج الجسم والتى أجريت على مزارع معلق الخلايا للجزر والمستخلصات الخالية من الخالية لنباتات L. erythrohizon والبطاطس (French et al, 1976) . هذا المسار يتميز بوجود بارا – هيدروكسى بنزالدهيد كوسيط هام فى عملية التمثيل الذى يتكون قبل الأكسدة إلى حامض بارا – هيدروكسى بنزويك ويتطلب الدهيد ديهيدروجينيز لتحويل الالدهيد إلى حامض الكربوكسيليك المقابل له . التحول اللا تاكسدى لحامض ترانس – سيناميك إلى البنزالدهيد يتبعها أكسدة لحامض البنزويك والتى اتضحت فى مزرعة خلايا H. androsaemum باستخدام مسار البادئات الخاصة المعلمة إشعاعياً . من المثير للاهتمام أن هذا المسار لا يوجد فى مزارع خلايا نباتات C. erythraea (Gentianaceae) بينما حامض ٣– هيدروكسى بنزويك يبدو أنه ينشأ فى الأصل مباشرة من مسار الشيكيمات (Abd EL – Mawla at el., 2001) . إسهام كلا المسارات التى تعتمد على الأكسدة – بيتا والتى لا تعتمد عليه تجاه تكوين مركبات البنزينويدز ظهر حديثاً فى أزهار البيتونيا باستخدام النظير الثابت المعلم إشعاعياً والتحليل الموازر بالحاسب الآلى لتدفق التمثيل . بالإضافة إلى ذلك فإن الاكتشاف الحديث للتخليق الحيوى لحامض ساليسيلك أدى إلى الاقتراح بأنه قد يتكون مباشرة من الأيزوكوريسمات خلال استجابة نبات الأرابيدوبسيس للممرض مما يزيد من إمكانية التخليق الحيوى للبنزينويد من وسائط مسار شيكيميات / كوريسمات بشمول أكبر فإن هذه النتائج توضح المسارات المختلفة لمركبات بنزينويد التى توجد فى العائلات النباتية المختلفة وحتى فى النوع ذاته اعتماداً على الظروف الفسيولوجية . ميكانيكية تقصير السلسلة الجانبية تظل محل تساؤل هام لم يتم الإجابة عليه ومن المدهش أنه لا يعرف إلا القليل حتى وقتنا هذا حول الإنزيمات والجينات المسئولة عن التخليق الحيوى لمركبات الفينيل بروباتويدز / بنزينويد . هذا ولو أنه قد حدث تقدم فى اكتشاف الإنزيمات والجينات المشتركة فى الخطوات النهائية لتكوين البنزينويد المتطاير . لقد وجد أنه تحت عائلتان عظيمتان للإنزيم تساهمان بدرجة كبيرة فى الخطوات النهائية للتخليق الحيوى للبنزينويدز المتطايرة . هذه تشمل عائلة BAHD للأسيتايل ترانسفيريزس وسميت بهذا الاسم بناء على الإنزيمات الأربعة المتميزة الأولى فى هذه العائلة .

BEAT (acetyl – CoA : benzl alcohol acetyltransferase) , AHCT (anthocyanin O- hydroxycmnamoyltransferase) , HCBT Anthranilate N- hydroxycinnamoyl / benzoyltransferase) and DAT (deacetylvindoline 4 – o- acetyltransferase ; D' Auria , 2006) And the SABATH family of methylransterases , also named based on the first

identified genes belonging to this family . SAMT (SAM : salicylic acid carboxyl methyltransferase) , BAMT (SAM : benzoic acid carboxyl methyltransferase) , And theobromine synthase (D" Auria et al., 2003) .

الاسيتل ترانسفيريز ينتمى إلى العائلة السوبر BAHD يحفز التحور الأكثر شيوعاً لنواتج التمثيل الثانوية باستخدام الكحولات والاسيتل CoAs كوسائط لتكوين الاسيل استرات والعديد منها متطاير . إنزيمات التخليق الحيوى التى تكون بنزيل أسيتات ، بنزيل بنزوات ، فينيل اثيل بنزوات ، أسيتاميل أسيتات تم عزلها وتوصيفها من أنواع النباتات المختلفة بما فيها البيتونيا والموز وكلارتيا بريورى (Du ' Auria et al., 2002) .

أفراد عائلة SABATH للميثيل ترانسفيريزيس تكون استرات المثيل المتطايرة للساليسيلات والبنزوات والسينامات والبارا – كومارت . هذه الإنزيمات تستخدم S– أدينوسيل – L – ميثيونين لإحداث مثللة مجاميع الكربوكسيل ذات الجزيئات الصغيرة . لقد تم عزل ١١ من هذه المثيل ترانسفيريزيس وتم توصيفها على المستوى الجزيئى والبيوكيميائى والتركيبى خلال الحقبة الزمنية الماضية . لقد تم تمييز نوعان من الإنزيمات بناء على تفضيل الوسيط : إنزيمات النوع SAMT المعزولة من C.breweri ، S.floribunda ، Antirrhinum majus ، Hoya carnosa ، Petunia التى لها كفاءة تحفيزية عالية وتفضيل لحامض الساليسيليك وإنزيمات النوع BAMT من A.majus ، ارابيدوبسيس ثاليانا ، أرابيدوبسيس ليراتا ونيكوتيانا سوفيولنيس التى تفضل حمض البنزويك . حديثاً تم عزل الكربوكسيل مثيل ترانسفيريز التى تحدث مثللة ترانس سينامات وبارا – كومارات مع كفاءة عالية من الريحان . من المدهش أن إنزيم الكربوكسيل ميثيل ترانسفيريز المعزول حديثاً لم يتعقد مع إنزيمات من النوع BAMT , BAMT والتى تملك بدلاً من أرابيدوبسيس إنزيم ٣– أسيتيك آسيد كربوكسيل ميثيل ترانسفيريز وهى فعل نسبى معروف قريب (Kapteyn et al., 2007) .

حتى الآن لم يتم عزل أى من الجينات التى تشفر حزمة الإنزيمات فى داخل شبكة البنزينويد التى تؤدى إلى تكوين بادئات المركبات المتطايرة هذا ولو أنه ظهرت وتأكدت وإنزيم بنزويك آسيد -(BZL) ليجيز -Aأنشطة الإنزيمات بنزويل – المرافق الانزيمى -A المسئولة عن تكوين بنزويل – المرافق الانزيمى (BA2H)٢– هيدروكسيليز والدخان على التوالى C. breweriوحمض الساليسيليك فى نباتات (Leon et al,1995).

تكوين مركبات المرتبطة بالفينيل بروبانويد (ك٦ – ك٢) مثل الفينيل أسيتالدهيد ، ٢– فينيل ايثانول من phe لم يحدث عبر حامض ترانس سيناميك ويتنافس مع PAL

للاستفادة من phe . علاوة على ذلك فإن التفسير الكمى لحركيات الفينيل أسيتالدهيد ، ٢- فينيل ايثانول المعلم إشعاعياً مع الديوتيريوم – phe المعلم إشعاعياً أدى إلى الاقتراح بأن الفينيل أسيتالدهيد فى أزهار البيتونياليس هو البادىء الوحيد لمركب ٢- فينيل ايثانول وأن التدفق الأكبر لهذا المركب الأخير خلال طريق مختلف وربما يكون خلال الفينيل بيروفات وحامض الفينيل أسيتيك كما تأكد حديثاً فى أزهار الورد . على العكس فإن لا الفينيل بيروفات ولا الفينيل أسيتات تم الكشف عنهما فى ثمار الطماطم والتى تشير إلى ذلك ضمنا فى هذا النظام حيث أن ٢- فينيل ايثانول تتكون أساساً من الفينيل أسيتالدهيد عبر فعل الانزيم الذى عرف حديثاً فينيل أسيتالدهيد ريدكتازيس . التخليق الحيوى للفينيل أسيتالدهيد من phe تتطلب إزالة كلا مجاميع الكربوكسيل والأمينو والذى تحدث فى البيتونيا بواسطة فعل إنزيم الفينيل أسيتالدهيد سينسيز (PAAS) فى الطماطم فإن phe يتحول أولاً إلى فينيل اثيل أمين بواسطة إنزيم الذى يحدث فقد الكربوكسيل فى الحمض الأمينى العطرى (AADC) ويتطلب فعل إنزيم الأمين اكسيديز المفترض ، ديهيدروجنيز أو ترانس أمينيز لتكوين الفينيل أسيتالدهيد (Tieman et al., 2006) .

الفينيل بروبينات المتطايرة (ك٦ – ك٣) مثل الأيوجينول والأيزوأبوجينيول والميثيل: أيوجنيول والأيزوميثيل أيوجنيول والشافيكول والمثيل شافيكول تشارك فى خطوات التخليق الحيوى مع المسار البيوكيميائى للجنين حتى مرحلة الفينيل بروبينول (مونو لجنول) وحينئذ تتطلب تفاعلين انزيميين لإيقاف فعل الأكسجين وظيفياً عند الموضع C – 9 (Koeduka et al., 2006) الإنزيمات التى تكون الفينيل بروبين تم عزلها وتوصيفها من الريحان والبيتونيا و C. breweri . فى هذه الأنواع فإن كحول الكونيفيريل يتحول أولاً إلى كوينفيريل أسيتات بواسطة إنزيم كونيفيريل الكحول أسيتايل ترانسفيرية (CFAT) قبل أن يختزل بواسطة أيوجينول سينسيز أو أيزوايوجينول سينسيز (EGS or IGS) إلى الأيوجينول والأيزوايوجينول على التوالى . هذا ولو أن CFAT ونظائره تم تعريفها فقط فى البسلة والبيتونيا . ولو أن الايوجينول والأيزوايوجينول تختلف حصرياً فى موضع الرابطة الزوجية للسلسلة الجانبية للأيوجينول فإن تكوينها فى البينونيا يعال بواسطة اثنان مختلفان وذواتا تنوع كبير لإنزيمات ريدكتازيس التى تعتمد على NADPH. على العكس فإن C.breweri تحتوى ثلاثة إنزيمات متميزة للريدكتازيس التى تعتمد على NADPH اثنان منها مسئولة عن تكوين الأيوجينول والثالث يملك نشاط للأيزوايوجينول سينسيز . هذا بينما أن واحد من الأيوجينول سينسيز (EGS) خاصة المشابه أيزو يرتبط عن قرب من الأيزوايوجينول سينسيز (IGS) والآخر ذات تنوع عالى . على غرار دور كونفيريل أسيتات فى تكوين الأيوجينول والأيزوايوجينول فى البيتونيا فإن الكوماريل أسيتات يعمل كبادىء للتخليق الحيوى للشافيكول فى الريحان (Vasseo et al., 2006) . فى الغالب فإن الأيوجينول والأيزوايوجينول والشافيكول

يحدث لها مثللة إضافية وإنزيم المثيل ترانسفيريز مسئولة عن إنتاج المثيل ايوجينول والأيزومثيل أيوجينول والمثيل شافيكول حيث تم تعريفها وتوصيفها من نباتات C. breweri والريحان (Wang et al.1997) .

٢-٢- المواد العطرية المتطايرة المشتقة من الكوريسمات

أحد مركبات البنزينويد المتطايرة التي تتكون استقلالياً من phe هو الميثيل أنثرانيليت والبادىء له الانثرانيليت يخلق من الكوريسمات . حيث أن الانثرانيليت سينسيز تم عزله وتوصيفه من أنواع النباتات العديدة أما الإنزيم المسئول عن مثللة أنثرانيليت كربوكسيل لم يعرف بعد . من الممكن أن إنزيم كربوكسيل مثيل ترانسفيريز ينتمى إلى عائلة SABATH للمثيل ترانسفيريزيس مسئول عن هذه العملية فى بعض الأنواع ولو أن فرد من عائلة BAHD للأستيل ترانسفيريزيس والأنثرانيلول مرافق انزيمى A : ميثانول استيل ترانسفيريز (AMAT) وجد مسئول عن تكوين ميثيل انثرافيلات فى عنب الكونكورد (Wang and Defuca 2005) . وسيط أنثرانيلويل – مرافق انزيمى -A الذى يستخدم بواسطة AMAT يخلق بواسطة مشتق BZL كما اتضح من BZL المنقى جزئياً من C.breweri والتى تملك نشاط لإنزيم انثرانيلويل – مرافق إنزيم ليجيز .

مركبات الدفاع النباتية العطرية المتطايرة التى تتكون بصفة مستقلة عن phe تتضمن كذلك مركب الاندول المحتوى على النتروجين وهو ناتج تمثيل غير متجانس الحلقات شائع فى النباتات الراقية . تكوين الاندول فى النباتات يحدث من الكوريسمات عبر مسار التخليق الحيوى للتربتوفان الموصف جيداً والتى تسبق تكوين التربتوفان . الخطوة الأخيرة للتخليق الحيوى للاندول تحفز بواسطة إنزيم اندول -٣- جليسرول فوسفات لييز (IGL) والذى يكسر الجليسرول المفسفر من اندول -٣- جليسرول فوسفات مع تكوين الاندول المتطاير (Frey et al., 2004) . ICL للذرة تشتق من تربتوفان سينسيز وتحت وحدة الألفا الخاصة به مسئول عن تكوين الاندول الذى يشق إلى تحت وحدة بيتا وتحويلها إلى التربتوفان . خلال النشوء فإن تشعب IGL من تربتوفان سينسيز بما يسمح بالقيام بوظيفته بفاعلية استقلالياً من تحت وحدة البيتا بما يسمح بانفراد الاندول المتطاير وهى العملية التى لا تحدث فى التخليق الحيوى للتربتوفان . بالإضافة إلى ذلك فإن جين IGL تنشط بالنسخ فى الذرة استجابة لآكلات النباتات والاستخدام الخارجى للجسمونات أو الفوليكتية من تقيىء الآفة . هذا الاستخدام يحفز نظام التعبير بالتوازى مع مستوى الآندول المتطاير المنبعث .

٣- المواد العطرية المتطايرة ودفاع النبات

فى العقدين الأخيرين تم توثيق أن النباتات تبعث خلائط من المركبات المتطايرة من أنسجتها استجابة للتلف الذى تحدثه آكلات النباتات . رائحة المخاليط التى تنبعث من

النباتات التى هوجمت بالآفات متنوعة وتتكون من أكثر من ٢٠٠ مركب مختلف توجد غالباً كمكونات صغرى . فى العديد من الحالات فإن هذه المكونات الصغرى عبارة عن مركبات عطرية . المواد المتطايرة المنبعثة تؤثر مباشرة على فسيولوجى وسلوك آكلات النباتات بسبب خصائصه السامة والطاردة أو مانعات التغذية وجذب الأعداء الخاصة بآكلات النباتات المهاجمة مثل الدبابير الطفيلية والذباب أو الأكاروسات المفترسة لحماية النباتات المؤشرة من تلف لاحق . كذلك فإن بعض المركبات المتطايرة تعول كلا الدفاعات المباشرة وغير المباشرة كما أتضح من المثيل ساليسيلات .

٣-١- المواد المتطايرة العطرية فى الدفاع المباشر للنبات

تضمين المركبات المتطايرة فى الدفاع النباتى المباشر تلقى قبول عريض وفى الوقت الحالى فإنه من المدهش عدم معرفة إلا القليل حول دور المواد العطرية المتطايرة فى إحداث السمية أو كرد أو إيقاف تغذية آكلات الأوراق . لم يوجد سوى ٣٢٩ من المركبات المتطايرة فينيل بروبانويدز المعروفة وهى تمثل جزء بسيط فى النباتات التالفة بواسطة آكلات الأوراق وتلك المنفردة من مدى محدود من أنواع النباتات وعند مستويات منخفضة جداً (الجدول ٨-٣) . بالإضافة إلى ذلك فإن النشاط الحيوى تجاه الحشرات اتضح حتى مع المواد العطرية المتطايرة القليلة . خصائص الطرد للمثيل ساليسيلات تجاه الأنواع العديدة من المنّ لوحظت فى جهاز قياس الشم والتجارب الحقلية . فى دراسات السلوك طرد المثيل ساليسيلات لمنّ الفول الأسود كما أحدثت تثبيط فى جذبها للإشارات الخاصة للعائل من الفول البلدى (Hardie et al., 1994) . فى الحقل أدى الاستخدام الخارجى للمثيل ساليسيلات إلى تأخير هجرة واستقرار منّ الشوفان على نباتات الشعير . (Pettersson et al., 1994)

هناك مركب عطرى آخر يملك نشاط طارد وهو الايوجينول وهو مكون كبير فى القرنفل وبعض أنواع الريحان . الايوجينول مركب طارد جيد لأربعة أنواع من الخنافس Sitophilus granaries , Sitophilus zeamais , Tribolium and prostephonus truncates كما يقوم بتثبيط تطور بيض S.granaries and S.zeamais واليرقات والعذارى داخل لب الحبوب . بالإضافة إلى ذلك فإن النشاط الابادى ضد الحشرات تأكد مع مدى عريض من المركبات العطرية مثل بنزيل بنزوات ، بنزيل ساليسيلات والأيزوايوجينول والمثيل أيوجينول والمثيل سينامات والسينام الدهيد والسافرول والأيزوفرول (Ngoh et al., 1998) . بينما انبعاث هذه المركبات استجابة لهجوم آكلات الأوراق سجل فى النباتات فإن العديد من المركبات العطرية الأخرى (كما هو مدون ٨-٢) . تنبعث من النباتات التى هوجمت بواسطة آكلات النباتات ولكن الأنشطة الحيوية تجاه الآفة والحشرات النافعة مازالت فى حاجة للتقدير .

جدول (٨-٢) : المواد العطرية المتطايرة التى تحفز بواسطة آكلات النباتات . المدخلات تقسم إلى مجاميع بداية بواسطة المركب ثم النوع النباتى ونوع الآفة وتاريخ النشر

Compound	Plant Species	Herbivore	Reference
Indol	*Arachis Hypogaea*	*Spodoptera Exigua*	Cardoza et al. (2002)
	Gossypium herbaceum	*Spodoptera littoralis*	Gouinguene et al. (2005)
	Gossypium	*Spodoptera*	Loughrin et al. (1994 , 1995a) Rose et al., (1996) Pare and Tumlinson (1997 , 1998 and Rodriguez – Saona et al. (2003)
	Phaseolus lunatus	*Spodoptera littoralis*	Mithofer et al. (2005)
	Vigna unguiculata	*Spodoptera littoralis*	
	Zea mays	*Rhopalosiphu m maidis*	Bemasconi et al. (1998)
	Zea mays	. *Spodoptera exigua*	Frey et al. (2000) ; Schmelz et al. (2003) and D' Alessandro et al. (2006)
	Zea mays	*Spodoptera littoralis*	Turlings (2005) and Gouinguene et al. (2005)
Methylsalicylate	*Capsicum annum*	*Tetranychus wrticae*	Van Den Boom et al. (2004)
	Datura stramonium	*Tetranychus uricae*	Van Den Boom et al. (2004)
	Glycine max	*Teranychus urticae*	Van Den Boom et al. (2004)
	Humulus lupulus	*Teranychus urticae*	Van Den Boom et al. (2004)
	Medicago truncatula	*Spodoptera littoralis*	Leitner et al. (2005)

تابع جدول (٨-٢) : المواد العطرية المتطايرة التى تحفز بواسطة آكلات النباتات . المدخلات تقسم إلى مجاميع بداية بواسطة المركب ثم النوع النباتى ونوع الآفة وتاريخ النشر

Compound	Plant Species	Herbivore	Reference
	Robinia pseudoacacia	*Tetranychus urticae*	Van Den Boom et al. (2004)
	Vicia faba	*Aphis fabae*	Hardie et al. (1994)
	Vigna unguiculata	*Spodoptera littoralis*	Gouinguene et al. (2005)
	Vigna unguiculata	*Tetranychus uricae*	Van Den Boom et al. (2004)
	Vitis vinifera	*Tetranychus urticae*	Van Den Boom et al. (2004)
Methylanthranilate	*Gossypium herbaceum*	*Spodoptera littoralis*	Gouinguene et al. (2005)
	Zea mays	*Rhopalosiphum exigua*	Bernasconi et al. (1998)
	Zea mays	*Spodoptera exigua*	D' Alessandro et al. (2006)
	Zea mays	*Spodoptera littoralis*	D' Alessandro and Turlings (2005) and Gouinguene et al. (2005)
2-phenylethyl acetae	*Zea mays*	*Rhopalosiphum maidis*	Bernasconi et al. (1998)
	Zea mays	*Spodoptera exigua*	D'Alessandro et al. (2006)
	Zea mays	*Spodoptera littoralis*	Degen et al. (2004) ; D'Alessandro and Turlings (2005) and Gouinguene et al. (2005)
Benzyl acetate	*Zea mays*	*Rhopalosiphum maidis*	Bemasconi et al. (1998)
	Zea mays	*Spodoptera exigua*	D' Alessandro et al. (2006)

تابع جدول (٨-٢) : المواد العطرية المتطايرة التى تحفـز بواسـطة آكـلات النباتـات . المدخلات تقسم إلى مجاميع بداية بواسطة المركب ثم النوع النبـاتى ونوع الآفة وتاريخ النشر			
Compound	**Compound**	**Compound**	**Compound**
	Zea mays	*Spodoptera littoralis*	Degen et al. (2004) and Gouinguene et al. (2005)
Methylbenzoate	*Gossypium herbaceum*	*Spodoptera littoralis*	Gouinguene et al. (2005)
	Malus sp.	*Tetranychus uricae*	Takabayashi et al. (1991)
	Vigna unguiculata	*Spodoptera littoralis*	Gouinguene et al. (2005)
	Zea mays	*Spodoptera littoralis*	Gouinguene et al. (2005)
2-phenylethanol	*Malus sp.*	*Popila japonica*	Lougrin et al. (1995b)
	Robinia peusdoacacia	*Tetranychus urticae*	Van Den Boom et al. (2004)
3-hexenyl benzoate	*Malus sp.*	*Panonychus ulmi*	Takabayashi et al. (1991)
	Malus sp.	*Tetranychus urticae*	Takabayashi et al. (1991)
Cresol	*Medicago truncatula*	*Tetranychus urticae*	Leitner et al. (2005)
	Phaseolus lunatuss	*Tetranychus urticae*	Hopke et al. (1994)
Trimethylbenzene	*Medicago truncatula*	*Spodoptera littoralis*	Leitner et al. (2005)
	Medicago truncatula	*Tetranychus urticae*	Leitner et al. (2005)
3,5 dimethoxytoluene	*Medicago truncatula*	*Spodoptera littoralis*	Leitner et al. (2005)
3,5 dimethylanisole	*Medicago truncatula*	*Tetranychus urticae*	Leitner et al. (2005)
Benzene acetonitrile	*Robinia pseudoacacia*	*Tetranychus urticae*	Van Den Boom et al. (2004)
Benzyl alcohol	*Phaseolus lunatus*	*Tetranychus urticae*	Hopke et al. (1994)
Ethyl benzoate	*Malus sp.*	*Tetranychus urticae*	Takabayashi et al. (1991)
Phenylacetonitrile	*Malus sp.*	*Popilla japonica*	Loughrin et al. (1995)

٣-٢- المواد المتطايرة فى دفاع النبات غير المباشر

بالإضافة إلى الدفاعات المباشرة فإن النباتات التى تهاجم بواسطة آكلات الأوراق تدافع عن نفسها بطريقة غير مباشرة بواسطة تحرير وانفراد المواد المتطايرة التى تجذب مفصليات الأرجل المفترسة والمتطفلة والأعداء الطبيعية التى تهاجم آكلات النباتات . التداخلات بين المستويات الغذائية الثلاثية للنبات – آكل النبات – المفترس / شبيه الطفيل منذ أن اقترحت لأول مرة عام ١٩٨٠ انتشرت بشكل عريض فى المملكة النباتية . فى الوقت الحالى تأكدت هذه الظاهرة فى أكثر من ٢٣ نوع نباتى مع خليط متنوع من النباتات وآكلات الأوراق والأعداء الطبيعية (Dicke , 1999) . من أفضل الدراسات عن التداخلات ثلاثية التغذية تلك التى وجدت بين نباتات فول الليما والأكاروسات التى تهاجم النباتات والأكاروسات والأكاروسات آكلة الحيوانات . إصابة نباتات فول الليما بواسطة الأكاروسات تحفز انبعاث المواد المتطايرة التى تجذب الأكاروسات المفترسة التى تفترس الآفات . أحد مكونات الخليط المتطاير الذى ينبعث بواسطة الأكاروس T. urticat الذى يصيب أوراق نبات فول الليما هو المثيل ساليسيلات وهو مركب عطرى متطاير شائع التواجد فى قمة النباتات التى تصاب بآكلات الأوراق (جدول ٨-٣) . المثيل ساليسيلات لم يكشف عنه فى نباتات فول الليما غير المعاملة أو المجروحة ميكانيكياً على عكس بعض المركبات المتطايرة الأخرى . بالإضافة إلى ذلك فإن الإصابة الكثيفة بالعنكبوت الأحمر (٤٠ / ورقة) تؤدى إلى انبعاث أكبر للمثيل ساليسيلات عما هو الحال مع الإصابة بمجموع صغير من الآفة (١٠ / ورقة) . لذلك فإن مستوى المثيل ساليسيلات المنفرد من فول الليما المصاب يبدو أنها ترتبط إيجابياً مع شدة هجوم الأكاروس بما يسمح للأكاروسات المفترسة بانتخاب النباتات التى تعول الأعداد الأكبر من المفترسات الخاصة بها .

المثيل ساليسيلات يجذب الأكاروسات المفترسة بطريق يتوقف على الجرعة ولكنه عند كميات غير عقلانية حيوياً (٢٠٠ ميكروجرام) يطرد الأكاروسات آكلات اللحوم . المفترسات المرباه على خيار مصاب بالأكاروسات والتى تبعث كميات ضئيلة للغاية (آثار) من المثيل ساليسيلات تختار نباتات فول الليما المصابة بالمفترسات أكثر من الخيار عندما تختبر فى وحدة قياس الشم . إضافة المثيل ساليسيلات خارجياً إلى خليط الخيار يجعله جاذباً للأكاروسات آكلة اللحوم . بالإضافة إلى ذلك فإن هذا المركب المنفرد يقوم كمصدر بديل للرائحة فى اختيار الاختيار المزدوج حيث أن تفضيل المفترسات للمخلوط المتطاير المحتوى على المثيل ساليسيلات من أوراق نباتات فول الليما المصابة بالأكاروسات T.urticat فقد مما أدى إلى الاقتراح بالدور الهام لهذا المركب المتطاير فى سلوك السرح للأعداء الطبيعية لمفصليات آكلات النباتات (De , Boer et al. 2004) .

جدول (٨-٣) : المركبات العطرية المتطايرة التى تشترك فى التداخلات ثلاثية التغذية . المدخلات قسمت أولا تبعا لنوع المركب وبعد ذلك تبعا لنــوع النبــات ونوع الآفة وأنواع المفترس / أشباه الطفيليات وتاريخ النشر

Copound	**Plant**	**Herbivore**	**Predator / Parasitoid**	**Reference**
Methylsalicylate	*Arabidopsis thaliana*	*Pieris rapae*	*Cotesia rubecula*	Van Poecke et al. (2001)
	Cucumus sativus	*Tetranychus urticae*	*Phytoseiulus persimilis*	Takabayashi et al. (1994)
	Gerbera jomesonii	*Tetranychus urticae*	*Phytoseiulus persimilis*	Gols et al. (1999)
	Clycine max	*Aphis glycines*	*Coccinella septempuntata*	Zhu and Park (2005)
	Lotus joponica	*Tetranychus urticae*	*Phytoseiulus persimilis*	Ozawa et al. (2004)
	Nicotiana attenuata	*Monduca quinquemaculata*	*Geocoris pallens*	Kesster and Baldwin (2001)
	Nicotiana attenuata	*Dicyphus mininus*	*Geocoris pallens*	Kesster and Baldwin (2001 , 2004)
	Nicotiana attenuata	*Epitrix hertipennis*	*Geocoris pallens*	Kesster and Baldwin (2001)
	Nicotiana attenuata	*Manduca sexta*	*Geocoris pallens*	Kesster and Baldwin (2001)
	Phaseolus lunatus	*Tetranychus urticae*	*Phytoseiulus perimilis*	Dicke et al. (1990 ,1999) Ta abayashi and Dicke (1996) De Bocet et al . (2004) and De Bor and Dicke

				(2004b)

تابع جدول (٨-٣) : المركبات العطرية المتطايرة التى تشترك فى التداخلات ثلاثية التغذية . المدخلات قسمت أولا تبعا لنوع المركب وبعد ذلك تبعا لنوع النبات ونوع الآفة وأنواع المفترس / أشباه الطفيليات وتاريخ النشر

Copound	**Plant**	**Herbivore**	**Predator / Parasitoid**	**Reference**
	Phaseolus lunatus	*Tetranchus urticae*	*Amblyseius potentilloe*	Dicke et al. (1990)
	Solanum lycopersicum	*Tetranchus urticae*	*Phytoseiulus persimilis*	Kant et al. (2004)
Indole	*Gerbera jamesonii*	*Tetranchus urticae*	*Phytoseiulus persimilis*	Gols et al. (1999)
	Phaselus lunotus	*Tetranchus urticae*	*Phytoseiulus persimilis*	Gols et al. (1999)
	Zea mays	*Heliothis virescens*	*Cardiochiles nigriceps*	De Moraes et al. (1998)
	Zea mays	*Pseudaletia separate*	*Cotesia kariyai*	Takabyashi et al. (1995)
	Zea mays	*Spodoptera exigua*	*Cotesia marginiventri s*	Turlings et al . (1990 , 1991 , 1993)
				Hoballah – Fritsche et al. (2002)
				De Alessandro et al. (2006) and Ton et al. (2007)
	Zea mays	*Spodoptera exigua*	*Microplitis croceipes*	Turling et al. (1993)
	Zea mays	*Spodoptera littoralis*	*Cotesia marginiventri s*	Ton et al. (2007)
2-phenylethanol	*Glycine max*	*Ahis glycines*	*Chrysoperla camea*	Zhu and Park (2005)

تابع جدول (٨-٣) : المركبات العطرية المتطايرة التى تشترك فى التداخلات ثلاثية التغذية . المدخلات قسمت أولا

تبعاً لنوع المركب وبعد ذلك تبعاً لنوع النبات ونوع الآفة وأنـــواع المفتـــرس / أشـــباه الطفيليات وتاريخ النشر				
Copound	**Copound**	**Copound**	**Copound**	**Copound**
	Glycine max	*Ahis glycines*	*Chrysoperla camea*	Zhu and Park (2005)
	Solanum tuberosum	*Leptinotarsa decemlineata*	*Perillus bioculotus*	Weissbecker et al (1999)
2-phenycoylactae	*Zea mys*	*Pseudaletia separata*	*Cotesia koriyai*	Takabayahi et al. (1995)
	Zea mys	*Spodoptera littoralis*	*Cotesia marginiventri s*	Hoballah – Fritsche et al. (2002)
	Zea mys	*Spodoptera littoralis*	*Cotesia marginiventri s*	Ton et al. (2007)
Benzyl acetate	*Zea mys*	*Pseudaletia separata*	*Cotesia kariyai*	Takabayahi et al. (1995)
	Zea mys	*Spodoptera littoralis*	*Cotesia marginiventri s*	Hoballah – Fritsche et al. (2002)
Benzyl cyanide	*Phaseolus lunatus*	*Teranychus uticae*	*Phytoseiulus persimilis*	Dicke et al. (1999)

من المثير للاهتمام أن نباتات فول الليما تفرد وتبعث وتحرر مخاليط متطايرة متميزة بمجرد إصابتها بالآفات المختلفة ومن ثم تسمح للأعداء الطبيعية بتجنب الـسرطان غيـر المجدي إذا كانت توجد الأنواع غير المفترسة فقط . عندما أصيبت نباتـات فـول الليمـا بواسطة آكل النبات المفترس T.urdicae أو الـدودة الخـضراء غيـر المفترسـة فـإن الأكاروسات آكلة اللحوم P.persimilis تكون قادرة على تحديد موضع فريستها بواسطة الكشف عن الاختلافات في الخلائط المتطايرة التي تنبعث بواسطة النباتات استجابة لآكلات الأوراق . إضافة الميثيل ساليسيلات إلى الخليط المتطـاير المنبعـث بواسـطة النباتـات المصابة بالأنواع غير المفترسة قللت من مقدرة الأكاروسات المفترسة لتحقيق هذا التمييز مما أدى إلى الاقتراح بوجود دور خاص للميثيل ساليسيلات في هذا التداخل . لقـد وجـد وضع معاكس في نبات بقولي آخر Medicago truncastula حيث أتضح أن الأكاروس T.urticae المتغذي عليه فشل في تحفيز انبعاث الميثيل ساليسيلات بينمـا نجحـت دودة

ورق القطن في هذا الدور مما أظهر الأدوار المرنة لهـذا الاسـتر فـي دفـاع النبـات .((Leitner et al. 2005

بالإضافة إلى P.lunatus and M.truncatula فإن ما لا يقل عن ١٢ نوع نبـاتي آخر أظهرت انبعاث الميثيل ساليسيلات بمجرد حدوث تلف من مهاجمة آكـلات النباتـات حتى لو كانت عند مستويات مختلفة (جداول ٨-٢ ، ٨-٣) . لقد وجد حدوث تحفيز قليـل في انبعاث الميثيل ساليسيلات بعد هجوم آكلات النباتات في الخيار والجربـارة حيـث أن مستويات الميثيل ساليسيلات وجدت منخفضة بالمقارنة بالمركبـات المتطـايرة المنبعثـة الأخرى (Golset et al. 1999) . لقد تم الكشف عن مـستويات عاليـة مـن الميثيـل ساليسيلات مقارنة بإجمالي ٣٨ مركب تنبعث من أوراق أرابيدوبسيس المصاب بيرقـات أبي دقيق الكرنب الأبيض وليست مـن النباتـات التالفـة صـناعياً أو غيـر التالفـة . الأرابيدوبسيس هو النبات الوحيد من الصليبيات أظهر أنـه يبعـث الميثيـل ساليـسيلات استجابة لهجوم آكل النبات مع جذب متتابع ليرقات شبيه الطفيـل Cotesia rubecula . في التقييم الحيوي للاختبار المزدوج فـإن C.rubecula تفـضل المخـاليط المتطـايرة المحتوية على الميثيل ساليسيلات من نباتات الأرابيدوبيسيس المصابة في مقابل المخـاليط من النباتات التالفة صناعياً أو غير التالفة . من المثير للدهشة أن الديدان التي تحفز انبعاث الميثيل ساليسيلات وجدت مرتبطة مع وفرة النسخ المتزايدة ATPAL1 ممـا أدى إلـى الاقتراح بأن التدفق خلال المسار تجاه هذا المركب الذي حفز بواسطة الإصـابة بـآكلات الأوراق في نباتات N.attenuata وجد أن مستوى الميثيل ساليسيلات ارتفع بشكل كبيـر في الخليط المتطاير المنبعث من النباتات التي هوجمت بواسطة ثلاثة أنواع سـائدة مـن الآفات التي وجدت خلال التجارب الحقلية : ديدان

Manduca quinquemaculata (Lepidoptera, Sphingidae), the leaf bug *Dicyphus minimus* (Heteroptera, Miridae), and the flea beetle *Epitrix hirtipennis* (Coleoptera, Chrysomelidae; Kessler and Baldwin 2001, 2004), thus attracing the generalist predator *Geocoris pallens* (kessler and Baldwin 2004).

إصابة فول الصويا والطماطم و Lotus japonicus بالأكـاروس الآكـل للنبـات T.urticae تؤدي إلى انبعاث المخاليط المتطايرة التي تحتوي على الميثيـل ساليـسيلات والأكثر جذباً للأكاروس المفترس P.persimilis عن المواد المتطايرة من النباتات غيـر المصابة أو التي تلفت صناعياً . في نباتات فول الصويا ينبعث الميثيل ساليسيلات أيـضاً بعد هجوم من فول الصويا وهو نوع المن الوحيد المعروف بتكوينه مستعمرات كبيرة على فول الصويا في أمريكا الشمالية . هذا هو المركب الوحيد المنبعث من النباتات المـصابة بالمن والذي يظهر استجابة كبيرة لجهاز الكروماتوجرافي الغازي – الرسام الكهربي لقرن

الاستشعار (GC-EAG) في خنافس أبي العديد وهو النوع المعروف عنه مهاجمة من فول الصويا في الحقل . في الاختبارات الحقلية أتضح أن المصائد المطعومة بالميثيل أظهرت جذباً كبيراً لأبى العيد ولم يحدث نفس الجذب للخنافس الأخرى H.axyridis مما أدى إلى الاقتراح بأن النوع الأول من هذا الاستر المتطاير كإشارة شمية لوضع الافتراس . ((Zhu and Park 2005

إصابة اللوبيا وحشيشة الدينار بالأكاروس T.urticae تؤدي كذلك إلى زيادة كبيرة أو لانبعاث جديد للميثيل ساليسيلات بينما في الأنواع الأخرى بما فيها الجراد الأسود والفلفل الحلو والتفاح الثورن والعنب فإن انبعاثاتها حفزت لدرجة قليلة . عندما اختبرت كفاءة الجذب للميثيل ساليسيلات في التجارب الحقلية أتضح أن بساتين العنب وحشيشة الدينار المطعومة بهذا الاستر المتطاير اصطادت أعداد كبيرة من الحشرات المفترسة بما فيها *Deraeocoris brevis*, *Stethorus nigricornis*, *Hemerobius* sp. *punctum picipes*, and *Orius tristicolor* عما هو الحال مع البساتين بدون كروت لاصقة أي غير مطعومة . بالإضافة إلى ذلك فإن زيادة الحشرات المفترسة في توافق مع الخفض الكبير في مجموع العناكب الحمراء وهي الآفة الكبرى في مفصليات الأرجل للريحان (James and Price 2004) .

توضح هذه النتائج أن الميثيل ساليسيلات يمكن اعتباره كدليل عام عن الضرر الذي تحدثه آكلات النباتات في منظومة أن المواد المتطايرة الأخرى تنبعث كذلك بعد الإصابة . من المدهش أنه في العديدمن التداخلات ثلاثية التغذية التي وصفت أعلاه فإن المشتركون من آكل النبات – والمفترس هي نفسها بينما النباتات التي تهاجم مختلفة وهي تبعث مخاليط متطايرة مختلفة باستثناء الميثيل ساليسيلات . تحليل المستقبلات الكيميائية من دبابير أشباه الطفيليات والأكاروسات المفترسة أظهر أن الحشرات قادرة على الكشف عن هذا المركب داخل الخليط المتطاير . هذا ولو أن الميثيل ساليسيلات لا ينبعث بواسطة جميع النباتات حيث يتناقص انبعاثه في أوراق الذرة بعد الإصابة بيرقات *pseudaletia separata* مما أدى إلى الاقتراح بعدم وجود أدوار للميثيل ساليسيلات في التداخلات ثلاثية التغذية المختارة .

الاندول مركب عطري آخر يوجد في الخليط المتطاير لبعض النباتات التي تلفت بواسطة آكلات الأوراق . ولو أن دور الاندول في التداخلات ثلاثية التغذية يعاني من نقص الدراسات المكثفة إلا أن الانبعاث المحفز للاندول استتباعاً لهجوم آكلات النبات معروفة جيداً وسجلت مع العديد من الأنواع النباتية بما فيها الذرة وفول الليما والفول السوداني . في الذرة أصبح الاندول مكون أساسي وكبير لطيف المواد المتطايرة التي تنبعث بعد ساعات قليلة من التغذية بواسطة الدودة القارضة . التخليق الحيوي للاندول يحدث جديداً استجابة لتلف الحشرات . مستوى انبعاث الاندول يتأثر كذلك بواسطة طور

التطور لآكلات الأوراق كما أتضح خلال الإصابة بواسطة يرقات P.separata مما أدى إلى الاقتراح بأنه من المميزات الأكبر لجعل النبات يجذب أشباه الطفيليات بينما تكون يرقات الآفة مازالت صغيرة . من المثير للاهتمام التفاوت الوراثي العريض الذي وجد بالنظر إلى انبعاث الاندول المحفز بواسطة آكلات الأوراق من بين ٣١ من خطوط هجن الذرة والتي تتراوح من آثار إلى أكثر من ٧٠% الانبعاثات المتطايرة الكلية (Degen et al. 2009) .

النظم ثلاثية التغذية الأكثر تواجداً ودراسه التي تتضمن الاندول تشمل نباتات الذرة والديدان القارضة والدبابير المتطفلة من الجنس Cotesia . تحت نوع الكونتيسا Kariyai و C.marginiventris معروف عنها أنها تزود نباتات الذرة التي تفرد الاندول استجابة للتلف بواسطة يرقات P.separata ويرقات الدودة القارضة S.exigua على التوالي . هذا ولو أن انبعاث الاندول وغيره من المركبات المتطايرة التي تحفز بواسطة آكلات الأوراق ليست دائماً متخصصة تبعاً لنوع الآفة . في الذرة فإن القيء من أنواع الديدان الخمسة المختلفة وكذلك نطاطات الأوراق تحفز نفس الحزمة والنسب النسبية للمركبات المتطايرة بما فيها الاندول ولكن بكميات كلية مختلفة مما يوضح أن هذه الإشارات عالية الكشف لا تعتبر دائماً إشارة جيدة تشير إلى وجود العائل للمفترسات السارحة وأشباه الطفيليات (Turlings et al. 1993) . من المدهش أن جذب C.marginiventris لم يتأثر بواسطة وجود أو غياب الاندول في الدراسات حيث نباتات الذرة المصابة بالديدان وتلك التي عوملت بالجليفوسات وهو مثبط 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate درست معاً. بالإضافة إلى ذلك فإنه يبدو أن الاندول طارد أكثر من جاذب لشبيه الطفيل M.rufiventris مما أدى إلى الاقتراح أن اثنان من أشباه الطفيليات ذوات البيولوجي المقارن قد يستخدم استراتيجيات مختلفة في استخدامها للإشارات الصادرة من النباتات لتحديد مواقع العوائل والاندول قد يلعب أدواراً مختلفة في الدفاعات المحفزة عبر مملكة النباتات والحشرات .

توافق وتزامن انبعاثات الاندول وشبيه الطفيل C.marginiventris سجل كذلك في نباتات القطن بعد التلف بواسطة دودة ورق القطن أو الدودة القارضة . على غرار الموقف في الذرة فإن انبعاثات الاندول بعد هجوم آكلات النباتات أتضح أنه يختلف بشكل كبير بين أصناف القطن . هذا ولو أنه على عكس الذرة فإن انفراد الاندول من نباتات القطن تحدث فقط عند موضع التلف الذي تحدثه الديدان ولا تحدث جهازياً . من المثير للدهشة أن الإصابة المتزامنة لنباتات القطن والدودة القارضة والذبابة البيضاء أدت إلى خفض انبعاث الاندول مما يضعف من شدة الجذب بين أشباه الطفيليات وعوائلها .

عندما يهاجم نوعان من آكلات الأوراق نباتات فول الليما فإن التغذية بواسطة الدودة القارضة فقط تحفز انبعاث الاندول ولم يحدث ذلك مع الأكاروس T.urticae (DeBoer

et al. 2004) . حتى الإصابة بكثافة عالية من الأكاروسات تؤدي إلى انبعاث قليل فقط من الاندول بينما التغذية بواسطة أعداد متوسطة من يرقات الدودة القارضة (٢/ورقة) أدت إلى حدوث زيادة كبيرة في انفراد الاندول بالمقارنة بمجاميع المقارنة والأكاروس . لا التلف الميكانيكي الصناعي ولا الذي يحدث بواسطة قوقع Ceyaea hortensis سبب انفراد الاندول . من المثير للدهشة مسار حمض الجسمونيك – المرتبط بالتأثير فقط تشترك في إنتاج المواد المتطايرة المحفزة بالديدان في نباتات فول الليما بينما كلا مساري حامض الساليسيليك – والجسمونيك آسيد المرتبط بالتأثير تشترك في إنتاج المواد المتطايرة التي تحفز بالأكاروس T.urticae .

المواد العطرية المتطايرة بنزيل آسيتات ، بنزيل سيانيد ، ميثيل أنثرالينات تنفرد وتنطلق كذلك بعد هجوم آكلات الأوراق (جدول ٨–٣) . هذه المركبات تنبعث من نباتات الذرة بعد الإصابة بالدودة القارضة باستثناء البنزيل سيانيد و ٢–فينيل إيثانول والتي تم الكشف عنها في نباتات فول الليما والبطاطس بعد التلف الذي تحدثه العنكبوت الأحمر وخنفساء البطاطس على التوالي . بالإضافة إلى ذلك فقد أتضح أن ٢–فينيل إيثانول ينبعث حصرياً بعد التغذية بواسطة خنفساء البطاطس والتي يحقق استجابة عالية جداً في نظام GC – EAG من مفترس P.bioculatus لخنفساء البطاطس (Weissbecker et al. 1999) .

الانفراد بعد هجوم آكلات النباتات لغالبية المركبات العطرية عند مستويات منخفضة نسبياً أثارت التساؤل حول دورها في التداخلات بين النباتات ومفصليات الأرجل . سجلات GC – EAG أظهرت أن الكميات النسبية للمركبات داخل الخليط المتطاير لا ترتبط دائماً مع استجابتها لجهاز EAG مما يوضح أن المركبات الصغرى قد تسجل بعض الاستجابات الأقوى وأن الجاذبات الحشرية الفاتحة تظل واجبة التغذية .

٤– المواد المتطايرة والتداخلات نبات – نبات :

المواد المتطايرة التي تنبعث من النباتات التي هوجمت بواسطة آكلات النباتات تعول كذلك التداخلات بين النبات والنبات وقد تحفز تعبير جينات الدفاع وانبعاث المواد المتطايرة في الأوراق السليمة لنفس النبات أو النباتات المجاورة وتلك التي لم تهاجم ومن ثم تزيد من انجذابها إلى آكلات اللحوم وخفض حساسيتها تجاه آكلات النباتات المدمرة (Dicke et al. 1990)) . تعرض نباتات الذرة لمخلوط المواد المتطايرة المنبعث من الأقران المصابة بدودة ورق القطن تقلل من تغذية وتطور الديدان بينما تزيد بشكل كبير جاذبية النباتات التي تفرد المواد المتطايرة للدبابير المتطفلة C.marginiventris مما يدعم دفاعاتها المباشرة وغير المباشرة (Ton et al. 2007) . هذا التأثير يرجع في جزء منه إلى الإنتاج المحفز للمركبات العطرية اندول و ٢–فينيل أسيتات في النباتات بعد

تعرضها للمواد المتطايرة المحفزة بالديدان . كذلك فإن نباتات فول الليما المجاورة أصبحت أكثر جذباً للأكاروسات المفترسة وأقل حساسية للأكاروسات الضارة عندما تتعرض للمواد المتطايرة التي تنبعث من الأوراق المجروحة صناعياً .Arimura et al) (2002 . الإصابة بالأكاروس T.urticae يحفز التراكم المحفز لستة جينات دفاع مرتبطة في أوراق فول الليما بينما تعرض النباتات غير التالفة للمواد المتطايرة . من النباتات المصابة ينظم بشكل كبير مستويات النسخ لخمسة فقط من بين ستة جينات درست بما فيها PAL . معاملة النباتات غير التالفة بالميثيل ساليسيلات الغازية تكرر نظم تعبير الجينات الدفاعية الستة التي لوحظت في الأوراق المصابة بالعنكبوت T.urticae مما يوضح الأهمية الكبرى لهذا المركب في التداخلات بين النبات والنبات .

بالإضافة إلى التحفيز المباشر للدفاعات فإن التعرض للمركبات المتطايرة من النباتات التي هوجمت بآكلات الأوراق قد تؤدي إلى تحفيز استجابات دفاعات النبات في النباتات المجاورة . التحضير بواسطة المواد المتطايرة تجهز النبات كي يستجيب سريعاً وبشدة ضد الهجوم اللاحق والمتتابع للحشرات آكلة النباتات . التحضير بواسطة المواد المتطايرة تقدم طرق مختلفة من الاستجابة لضرر الحشرة المهاجمة عبر التنشيط غير الكامل لعمليات الدفاع المرتبطة ومن ثم تخفض من الاستثمار تجاه الدفاعات للنباتات المستقبلة حتى حدوث الهجوم الفعلي . هذا بينما التحضير بواسطة المركبات العطرية قد يكون أحد الميكانيكيات المشتركة في التأثير نبات – نبات في الطبيعة فإن أدوار المواد المتطايرة العطرية في وتحت نطاق الميكانيكيات الجزيئية والارتباط الايكولوجي لهذه التداخلات الخاصة مازال في حاجة للدراسة .

٥- اتجاهات المستقبل :

في الوقت الحالي يوجد قبول عريض بأن المركبات المتطايرة التي توجد في الهواء تلعب أدواراً هامة في دفاع النباتات هذا ولو أن مساهمة المواد العطرية لهذه العمليات مازال في حاجة لبحوث ودراسات مستقبلية . من أكثر الأسئلة إثارة والتي لم تجد الحل حتى الآن لماذا المواد المتطايرة العطرية تعاني من نقص التمثيل العريض الذي لوحظ مع التربينيويدز في مخاليط المواد المتطايرة التي تحفز بآكلات الأوراق ؟ . مقدرة النباتات على تخليق طيف عريض من المركبات العطرية المتطايرة وفي الغالب على مستويات عالية أتضح وتأكد في الأعضاء الزهرية (Verdonk et al. 2003) . هذا بينما في عدد محدود من الأنواع النباتية التي درست فإن المركبات العطرية المتطايرة لا تمثل جيداً بشكل مقارن في دفاعات النباتات . هذا التناقض سوف يوضح خلال بحث التداخلات بين النبات والحشرة التي تحدث في عدد كبير من النباتات . انبعاث مستويات منخفضة من المركبات العطرية قد يوضح كذلك أن أفعالها تنشيطية وقد تغرس مستوى من التخصصية

للإشارة في الهواء وهذه الإمكانيات في حاجة للتوضيح على المستويات الحسية وفي التجارب الحقلية .

أهمية المواد العطرية المتطايرة يجب ألا يغالى فيها بناء على تواجدها الدقيق حيث أن الحشرات عندها مقدرة مثيرة للدهشة في الكشف عن مستويات منخفضة من المركبات المتطايرة التي تحدث بعض الاستجابات الشديدة . لقد أجريت محاولات سابقة لتحديد تأثيرات المواد العطرية المتطايرة كل على حده على سلوك الحشرات عن طريق إضافة مركبات خارجية لمخاليط الرائحة الموجودة . التقدم الحديث في اكتشاف الجينات والهندسة التمثيلية جعلت من الممكن في الوقت الراهن المناورة بمستويات المواد المتطايرة في النباتات سواء في الانبعاث أو زيادة انبعاثها . ولو أن إسهامات بعض التربينويدز المتطايرة لبعض النباتات تأكدت عبر هذا الطريق فإنه في حاجة للاستخدام مع المركبات العطرية المتطايرة وتوضيح دورها المعلن سابقاً في التداخلات بين النبات والحشرة . من نواحي الاهتمام الخاصة كيف أن التدفق خلال مسار الشيكيمات الذي يقدم بادئات للمواد المتطايرة العطرية ينظم خلال دفاع النبات مع هدف تحديد ما إذا كانت الانبعاثات العالية للمواد المتطايرة سوف تحقق فوائد اللياقة ودفاع النبات أم لا . الكشف الحديث لعامل النسخ MYB والذي ينشط مسار الشيكيمات استجابة للجروح سوف يمكن من الإجابة على هذا التساؤل عبر هندسة التمثيل .

References

Abd El-Mawla AMA, Schmidt W, Beerhues L (2001) Cinnamic acid is a precursor of benzoic acids in cell cultures of Hypericum androsaemum L. But not in cell cultures of Centaurium erthraea RAFN. Planta 212:288-293

Arimura G, Ozawa R, Kugimiya S, Takabayashi J, Bohlmann J (2004) Herbivore-induced defense response in a model legume: two-spotted spider mites, Tetranychus urticae, induce emission of (E)-B-ocimene and transcript accumulation of (E)-B-ocimene synthase in Lotus japonicus. Plant Physiol 135:1976-1983

Beekwilder J, Alvarez-Huerta M, Neef E, Verstappen FWA, Bouwmeester HJ, Aharoni A (2004) Substrate usage by recombinant alcohol acyltransferases from various fruit species. Plant Physiol 135:1865-1878

Chen Y, Xiangbo Z, Wei W, Chen Z, Gu H, Qu LJ (2006) Overexpression of the wounding responsive gene AtMYB15 activates the shikimate pathway in Arabidopsis. J Int Plant Biol 48:1084-1095

Engelberth J, Alborn HT, Schmelz EA, Tumlinson JH (2004) Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. Proc Natl Acad Sci USA 101:1781-1785

Farag MA, Fokar M, Abd H, Zhang H, Allen RD, Pare PW (2005) (Z)-3-Hexenol induces defense genes and downstream metabolites in maize. Planta 220:900-909

Frence CJ, Vance CP, Towers GHN (1976) Conversion of p-coumaric acid to p-hydroxybenzoic acid by cell free extracts of potato tubers and Polyporus hispidus. Phytochem 15:564-566

Gang DR, Lavid N, Zubieta C, Chen F, Beuerle T, Lewinshon E, Noel JP, Pichersky E (2002) Characterization of phenylpropene O-methyltransferases from sweet basil: facile change of substrate specificity and convergent evolution within a plant OMT family. Plant Cell 14:505-519

Hardie J, Isaacs R, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1994) Methyl salicylate and (-)-(IR,5S)-myrtenal are plant-derived repellents for black bean aphid, Aphis fabae Scop. (Homoptera: Aphididae). J Chem Ecol 20:2847-2855

James DG, Price TS (2004) Field – testing of methyl salicylate of recruitment and retention of beneficial in grapes and hose . J Chem Ecol 30 : 1613 – 1627

Kent MR , Ament K, Sabelis MW , Haring MA , Schuurink PC (2004) Differential timing of spider mite – induced direct and indirect defenses in tomato plants . Plant physiol 135 : 483 – 495

Leitner M , Boland W, Mithofer A (2005) Direct and indirect induced by piercing – sucking and chewing herbivores in Medicago truncatula . New phytol 167 : 597 – 606

Mithofer A , Wamer G , Boland W (2005) Effects of feeding Spodoptera littoralis on lima bean leaves . II . Continuous mechanical wounding resembling insect feeding is sufficient to elicit herbivory – related volatile emission . Plant physiol 137 : 160 – 168

Ngoh SP, Choo LEW , Pang FY, Huang Y, Kini MR , Ho SH (1998) Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach . periplaneta americana (L.) pestic Sci 54 : 261 – 268

Ozawa R, Shimoda T, Kawaguchi M, Arimura G, Horiuchi J , Nishioka T, Takabayashi J (2000) Lotus japonicus infested with herbicorous mites

emits volatile compounds that atract predatory mites , J plant Res 113 : 427 – 433

Pettersson J, Pickett JA , pye BJ , Quiroz A, Smart LE, Wadhams LJ, Woodcock CM (1994) Winter host component reduces colonization by bird – cherry – oat aphid , Rhopalosiphum padi (L.) (Homoptera , Aphididae) , and other aphids in cereal fields . J Chem Ecol 20 : 2565 – 2574

Price PW , Bouton CE , Gross P, Mc pheron BA , Thompson JN , Weis AE (1980) Interactions among 3 trophic levels – influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies . Ann Rev Ecol System 11 : 41 – 65

Schmelz EA , Alborn HT , Banchio E, Tumlinson JH (2003) Quantitative between induced jasmonic acid levels and volatile emissions in Zea mays during Spodoptera exigua herbivory . Planta 216 : 665 – 673

Takabayashi J, Dicke MA (1996) plant – carnivore mutualism through herbivore – induced carnivore attractants . Trends plant Sci 1 : 109 – 113

Van Den Boom CEM , Van Beek TA , Posthumus MA , De Groot AE , Dicke MA (2004) Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by Tetanychus urticae feeding on plants from various families , J Chem Ecol 30 : 69 – 89

Verdonk JC , De Vos CHR , Verhoeven HA , Haring MA , van Tunen AJ , Schuurink RC (2003) Regulation of floral scent production in petunia revealed by targeted metabolomics . phylochem 62 : 997 – 1008

Watanabe S , Hayashi K, Yagi K, Asai T, Mactavish H, Picone J, Turnball C , Watanabe N (2002) Biogenesis of 2- phenylethanol in rose flowers ; incorporation of [2H8] L- phenylalanine into 2- phenylethanol and its beta – D- glucopyranoside during the flower opening of Rosa "Hoh – Jun " and Rosa damascena , Mill Biosci Biotechnol Biochem 66 : 943 – 947

Zhu J, Park K (2005) Methyl salicylate , a soybean aphid – induced plant volatile atractive to the predator Coccinella setempunctata . J Chem Ecol 31 : 1733 - 1746

الباب التاسع

تنشيط الدفاعات النباتية من خلال إشارات سستيمينات والببتيدات والبروتين كينيزيس والجسمونات المخلقة حيوياً

أولاً السستيمينات و Atp ببتيدات : الدفاع المرتبط بإشارات الببتيد

Systemins and Atpeps : Defense – Related Peptide Signals

Javier Narvaez – Vasquez and Martha L. Orozco Cardenas

النباتات تتضمن عائلات مختلفة تطلق إشارات مرتبطة وظيفياً (الأحماض الأمينية من ١٥ – ٢٣) تعمل على تكبير استجابات الدفاع ضد الحشرة / آكل النباتات والممرضات التى تهاجم النباتات خلال تنشيط مسار تأشير الأوكتاديكانويدز . الببتيدات مشتقة من البروتينات البادئة الأكبر والتى تنفرد فى الفراغ خارج الخلايا للتداخل مع المستقبلات الغشائية عن طريق ميكانيكيات عمليات غير معروفة . إلى جانب تشابهات التتابع النادرة فيما بين إشارات الببتيد المرتبطة بالدفاع فإن خصائصها الوظيفية مازالت تقترح بعض الأصول السلفية الشائعة لنظم تأشير ببتيدات الدفاع فى النباتات والحيوانات .

J. Narvaiez – Vasquez

Depatrment of Botany and plant Sciences , University of Califormia Riverside , Riverside , CA 92521 , USA

e-mail : jnarvaez@ucr.edu

A. Schaller (ed.) , Induced plant Resistance to Herbicory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١ – مقدمة

فى العائلة الباذنجانية وهى عائلة هورمونات الببتيد المرتبطة بالدفاع التى يطلق عليها سيستيمينات Systemins وهى تشترك فى تنشيط جينات الدفاع استجابة للجروح بسبب هجوم آكلات النباتات (Rxan and Pearce 2003) . سيستيمين الطماطم (Sys) عبارة عن أوليجوببتيد مكون من ١٨ حمض أمينى يقع فى طرفيات الكربون للبروتين البادىء السيتوسولى المكون من ٢٠٠ حامض أمينى تسمى بروسيستيمين (Srosys ... الشكل ٩-١ A .) . بمجرد حدوث الجروح يبدو أن Sys يجهز بواسطة التحلل البروتينى من Prosys وينفرد فى أبوبلاست جدار الخلية حيث يتداخل السيستيمين مع

مستقبل الغشاء لتنشيط تأشير الدفاع . بالإضافة إلى Sys فإن نباتات الطماطم تملك ثلاثة جليكوببتيدات غنية بالهيدروكسى برولين المرتبطة وظيفياً (تسمى Tom Hyp Sys I , II, III) لعدد ١٥ - ٢٠ مخلفات تخلق من بادىء بولى بروتين منفرد لا علاقة له بمركب ProSys (الشكل ٩-١ C) . بروتينات البادىء ProHypSys تخلق مع ببتيد منفرد خلال مسار الإفراز ويتمركز موضعياً فى جدار الخلية .

حديثاً تم تعريف إشارة ببتيدية مرتبطة بالدفاع محفزة بالجروح فى نباتات الأرابيدوبسيس (Huffakr et al , 2006a) . الببتيد -١ للأرابيدوبسيس المشتركة فى المناعة الأصيلة والاستجابة ضد الممرضات مع Orthologs فى الأنواع من العديد من العائلات النباتية بما فيها العائلة الجنازية . على غرار Sys فإن الببتيدات المرتبطة مع AtPep 1 تخلق من بروتينات بادئة كبيرة تعانى من نقص التتابع الإشارى التقليدى .

تنشيط جينات الدفاع بواسطة السستيمينات و At Pep 1 تشمل الجينات التى تشفر بروتيناتها الخاصة البادئة والتى تعال بواسطة مسار تأشير أوكتاديكانويد (Huffaker et al . 2006) . فى هذا المسار ينطلق حمض لينولينيك من الأغشية الخلوية بواسطة فعل إنزيمات الفوسفوليبيزيس والتحول بواسطة سلاسل من التفاعلات الإنزيمية فى أوكسى ليبنزفيتودانويك آسيد (OPDA) وحمض الجسمونيك (JA) . هذه الأوكسى ليبيتات محفزات قوية لتنشيط جين الدفاع . أظهرت دراسات الدليل الوراثى والموضعية ما أدى إلى الاقتراح بأن JA أو JA – الأوكسى ليبينات المشتقة تعمل وظيفياً كإشارات جهازية تشترك فى الاستجابة للجروح الجهازية ضد آكلات النباتات فى الطماطم (Wasternack et al . 2006 , Howe 2005) والمقاومة الجهازية المكتسبة المحفزة بالممرض (SAR) فى نباتات الأرابيدوبسيس (Truman et al. 2007) .

الدليل المجمع أوضح أن النباتات فيها جهاز تأشير يعتمد على الببتيد والذى ينشط ويكبر تخليق إشارات أوكسى ليبين واسعة الانتشار فى النباتات للدفاع ضد هجوم الممرض وآكلات النباتات . هذا مرادف لتنشيط المناعة الأصيلة واستجابات الدفاع ضد الالتهابات التى تعال بواسطة بولى ببتيدسيتوكينات فى الحيوانات خلال إنتاج إشارات ليبيد أيكوسانويد (Bergey et al. 1996) مما أدى إلى الاقتراح بأن إشارات الببتيد المرتبطة بالدفاع قد تنشأ من جين أصيل مشابه فى حقيقة النواة . الخصائص الوراثية والبيوكيميائية والوظيفية ونشوء إشارات الببتيد الخاصة بالدفاع فى النبات سوف تناقش لاحقاً .

A

1 NGTPSYDIKNKGDDMQEEPKVKLHHEKGGDEKEKIIEKETPSQDINNKDTISS YVLRDDTQEIPK

66 MEHEEGGYVKEKIVEKETISQYIIKIEGDDDAQEKLKVEYEEEEYEKEKIVEK ETPSQDINNKGD

131 DAEKPKVEHEEGDDKETPSQDIIKMEGEGALEITKVVCEKIIVQSKPPSKRDP

PKMQTD
197 NNKL
B
1 MRVLFLIYLILSPFGAEARTLLENHEGLNVGSGYGRGANLPPPSKEVSPTRTD E
66 KTSENTELVMTTIAQGENINOLFSFPTSADNYYQLASFKKLFISYLIPVSYVW NLIGSSPDHDL
131 VDIFDSKSDERYWNRKPLSPPSPKPADGQRPLHSY
C
1 MISFFRAFFLIIIISFLIFVGAQARTLLGNYHDDEMLIELKLESGNYGRTPYKTP PPTSSSPTHQ
67 EIVNGRHDSVLPPSPKTDPIIGQLTTITTTPHHDDTVAAPPVGGGRHDYVASP PPKPQDEQROII
133 ITSSSSTLPLOQASY
D
1 MEKSKRRSEESHLWIPLQCLDQTLRAILKCLGLFHQDSPTTSSPGTSKQPKEE KEDVTME
61 KEEVVVTSRATKVKAKQRGKEKVSSGRPGQHN

شكل (٩-١) : تتبع منشأ تتابعات الحمض الأمينى لبادئات الببتيدات المرتبطة بالدفاع فى النباتات . (A) بروتين بادىء سيستيمين الطماطم والبروسيستيمين (٢٠٠ فضالة) . تتابع سيستيمين (١٨ فضالة) عند طرفيات الكربون موضحة بحروف كبيرة وخطوط تحتية . خمسة تكرارات غير كاملة (خطوط تحتية) أدت إلى الاقتراح بأن جين Pro sys نتجت من تضاعف الجين وحدوث الإطالة . (B – C) (B ١٦٥ فضالة) والطماطم (C – ١٤٦ فضالة) هيدروكسى برولين - بادئات البولى بروتين الغنى بالسيستيمين . التتابعات المقابلة للببتيدات النشطة حيوياً (١٥ – ٢٠ فضالة) موضحة بحروف كبيرة وخطوط تحتية . تتابع الببتيد المؤشر المزعومة فى كلا البادئات موضحة بحروف لاتينية . التتابع القصير المحفوظ على نهايات النتروجين موضح تحت خطى كذلك . (D) بروتين بادىء ببتين الأرابيدوبسيس (AtPep 1) (٩٢ فضالة) . تتابع AtPep (٢٣ فضالة) موضح كذلك بحروف كبيرة وخطوط تحتية .

٢- سيستيمين الطماطم Tomato Systemin (Sys)

Sys هى أول ببتيد إشارى خارج الخلايا اكتشف فى النباتات (Pearce at el. 1991) ومن أفضل الإشارات التى درست . Sys تشترك فى تنشيط أكثر من ٢٠ جين يحفز بالجروح من العائلة الجنازية وتشترك فى العديد من الخصائص مع هورمونات الببتيد فى الحيوانات والخميرة (Harris 1989) . بداية فإن Sys يخلق كبروتين بادىء أكبر مما أدى إلى الاقتراح بأنه ينفرد بواسطة انقسام بتحلل البروتين (الشكل ٩ – ١ A.). ثانياً فإن Sys فعال عند تركيزات منخفضة جداً . فى التقييم الحيوى للنبات فإن

كميات فيمتومول من Sys عندما أضيفت لنباتات الطماطم الصغيرة المفصولة خلال سيقان القطع أحدثت أو جعلت الأوراق تراكم بروتينات مثبطات البروتينيز الخاصة بالدفاع PIs) (خلال ٢٤ ساعة بالإضافة إلى ذلك فإن تركيزات تحت النانومولر لمزارع معلق الخلايا لنباتات Lycopersicon perurianum والمعروفة باستجابة الألكلة . ثالثا فإن فعل Sys يعال بواسطة تداخله مع مستقبل الغشاء عند سطح الخلية مما يوضح أن Sys يجب أن ينفرد فى الفراغ الخلوى الخارجى لإحداث نشاطه الحيوى .

٢-١- جين السيستيمين الأولى والبروتين The ProSys gene and protein

جينوم الطماطم يملك نسخة مفردة من جين السيستيمين الأولى بالإضافة إلى Sys الواقع على الأطراف الكربونية توجد خمسة تكرارات غير كاملة لوظيفة غير معروفة فى ProSys مما يوضح أن جين ProSys ينتج من دورات عديدة من تضاعف الجين والحوادث الممتدة . سلاسل ProSys وجدت فى أنواع من تحت قبيلة العائلة الجنازية بما فيها الطماطم والبطاطس والفلفل وظل الليل ولم يوجد فى الدخان أو الأرابيدوبسيس . تحليل أزواج تتابع الأحماض الأمينية لسلاسل ProSys توضح أنه يوجد درجة عالية من التحفظ فيما بينها (٧٣ - ٨٨% تطابق) . Sys المخلق من جميع أنواع العائلة الجنازية التى درست قادرة على تحفيز PIs الدفاعية فى تجارب التقييم الحيوى لنباتات الطماطم . (Constabel et al., 1998)

جين ProSys تحت التنظيم المتخصص للنوع نسيج / خلية والتطور والبيئة (Ryan and pearce 1998) . لقد وجدت مستويات تركيبية منخفضة لـ Prosps mRNA داخل الخلايا البرانشيمية اللحائية الوعائية (PP) فى الأوراق والتبلات والسوق ولم توجد فى الجذور . كذلك فإن Pro Sys ينظم تطوريا كذلك فى جميع الأعضاء الزهرية حيث تتراكم مستويات عالية من ProSys mRNA والبروتين . بالإضافة إلى ذلك فإن تعبير جين ProSys تحت تنظيم فائق فى الأعضاء الخضرية الهوائية بواسطة الجروح الميكانيكية والحشرات القارضة وحمض الجسمونيك JA واستر الميثيل للحمض (MeJA) والأوليجو سكريات المشتقة من النبات والممرض وغيرها من محفزات الممرض .

ProSys لا يشكل تتابع إشارى متنبأ به ، أسس غشاء ناقل أو تحورات بعد النسخ تعتمد على ER / Golgi مما أدى إلى الاقتراح بأن بادىء Sys يخلق على ريبوسومات حرة فى السيتوبلازم (Mc Gurl et al. 1992) . مكون الحمض الأمينى للسيستمين الأولى Pro Sys (الشكل ٩-١ A) يتميز بوفرة الأحماض الأمينية (٢٧,٥%) وكذلك عدد كبير من فضالة Lys الأساسية (١٥%) . ProSys تحتوى على خيوط من Lys

البديل (K) وفضلات (E) Glu تطابق ما يعرف بالباعثات KEKE (Realini et al. 1994) . لقد أتضح أن محفزات أو باعثات مشابهة تشترك فى التداخلات بروتين - بروتين خلال تكوين الزمام المنزلق القطبى Polar zippers (Zhang et al. 1997) .

٢-٢- تجهيز ProSys

السيستمين Sys عبارة عن ببتيد داخلى يجب أن يتحرر أو ينفرد ومن بادىء البروتين الخاص به بواسطة انقسام تحلل بروتينى بواسطة الببتيديز المجهز فى تشابه مع هورمونات الببتيد الأخرى فى حقيقة النواة . مواقع التجهيز والإنزيم أو الإنزيمات المسئولة التى تكسر السيستمين Sys من Pro Sys غير معروفة فى الوقت الراهن . على عكس معظم بادئات الهورمون الأولى فى الحيوانات والخميرة فإن Pro Sys لا يخلق خلال مسار الإفراز .

Pro Sys لا يملك مواقع ثنائية القاعدة Dibasic تقليدية للتجهيز بواسطة سبتيليزين / هيكسين وإنزيمات تحول الهورمون الأولى Prohomon converteses (PCs) فيما عدا تتابع KR ثنائى القاعدية فى منتصف Sys (الشكل ٩-١ A والجدول ٩-١) . البروتييز المرتبط مع Sys فى الأغشية الخلوية للطماطم والتى تقارب الفيورين فى عائلة PC قد تقسم أو تكسر Sys عند هذا الموقع . البروتييز قد يشترك فى دوران Sys حيث أن نواتج تحلل البروتين ذات أنشطة بيولوجية منخفضة . بالتبعية فإن إحلال هذه المتبقيات القاعدية مع الأحماض الأمينية المحورة كيميائياً تزيد من نصف فترة الحياة ونشاط Sys المحور .

جدول (٩-١) : مقارنة التتابع وتحويرات ما بعد النسخ والترجمة للببتيدات المرتبطة بدفاع النبات . برولين (P) ، هيدروكسى برولين (O) ، ثريونين (T وسيرين (S) كمتبقيات موضحة بحروف كبيرة .

Peptide1	Sequence	Pentose units
Sys	AVQSKPPSKRDPPKMQTD	0
TomHypSysII	RTPYKTOOOOTSSSPTHQ	8 – 17
TomHypSys II	GRHDYVASOOOOKPQDEQRQ	12 – 16
TomHypSys III	GRHDSVLOOOSOKTD	10
TobHypSys I	RGANLPOOSOASSOOSKE	9
TomHypSys II	NRKPLSOOSOKPADGQRP	6
AtPep 1	ATKVKAKQRGKEKVSSGRPGQHN	0

[1]Sys , tomato systemin ; TomHpSys , tomato hydroxyproline – rich glycopeptides I , II and III ; TobHypSys , tobacco hydroxyproline – rich glycopeptides I and II AtPep I , Arabidopsis peptide 1

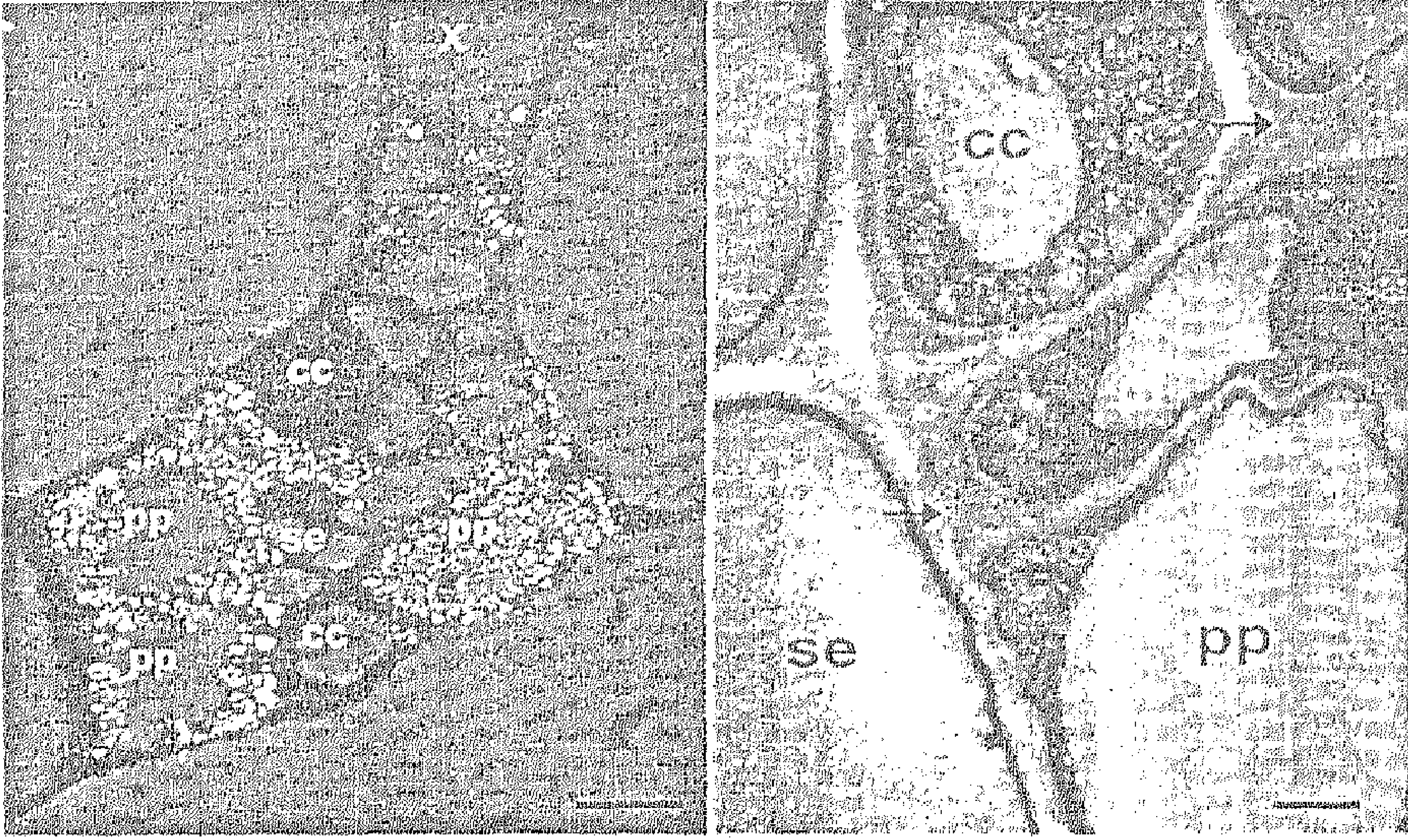
ProSys غنى كذلك فى أزواج الأحماض الأمينيــة الحمــضية (E / D – E / D الشكل ٩-١) . فى الحقيقة فإن تتابع Sys يكشح بواسطة فضالاتAsp عند كلا نهايــات النتروجين والكربون الطرفية . من المثير للدهشة أن الأزواج الحمضية مــن الأحمــاض الأمينية توجد كذلك فى بادئات البروتين فى الأرابيدوبسيس عند ببتيدات AtPep (الشكل ٩-١ D .) . الأندو بروتييزيس النباتية مع التخصص مع فــضالات P1 Asp ســجلت والببتيديزيس العديدة معروف أنها تحفز بواسطة الجروح . لقد لوحظ أن إنــزيم تجهيــز بروتين البادىء الأقــل إشـــارية للسيتوكــسين انترليــوكين – 1 B (IL – 1B) ســبب الالتهابات القوية فى الخلايا الحيوانية ما هو إلا بروتييز Cys مشابه للكبسيس التى تتطلب وسائط مع Asp المجاورة والنتروجين الطرفى لرابطة ببتيد سكيــسيل (فــضالات P1) .لذلك من المغرى القول بأن بادىء ProSys يجهز بواسطة البروتييز الذى ينكسر عنــد جانب CooH لحامض (P1) Asp مفرداً نتروجين طرفى يمــد ببتيــدات Sys والتــى تشذب بواسطة الأمينو ببتيدازيس فى السيتوسول (Walling 2006) .

إمكانية أن ProSys يفرز فى الأبوبلاست وما يستتبع ذلك مــن تجهيــزه بواســطة إنزيمات البروتييزيس خارج الخلايا درست (Dombrowski et al. 1999) . ProSys المندمج تم تحضينه مع سوائل غسيل الأبوبلاست لأوراق الطماطم وبيئة مزرعــة خلايــا L.peruvianum . لقد تم تحليل تكامل ProSys على أوقات مختلفة بواسطة – SDS PAGE وشطب البروتين باستخدام الأجسام المضادة Anty Sys . لا يوجد دليــل عــن إنزيمات تجهيز ProSys فى الأبوبلاست أو البيئة .

الدليل على أن ProSys يخلق ويجهز فى خلايا PP جاءت من الدراسات المباشــرة للمناعة الكيميائية الخلوية باستخدام قابلية ومقدرة الأجسام المضادة المنقاة ضــد الطــول الكامل للسيستيمين الأولى ProSys و Sys و proSys A (ProSys الذى يفتقر لتتــابع السيستيمين) . أظهرت هذه الدراسات أن ProSys يقع فى السيتوسول وأنوية خلايــا PP فى الأوراق والتبلات والسوق والأعضاء الزهرية للطماطم والبطاطس . كميــة المركــب المعلم إشعاعياً زادت بشكل كبير فى الأوراق بمجرد حدوث الجروح أو المعاملة بالمثيــل جسمونات MeJA فى نباتات الطماطم (الشكل ٩-٢ A) . نظــام موضــعية النــواة – السيتوبلازمية لوحظ كذلك فى جميع أنواع الخلايا فى قطاعات الورقة من نباتات الطماطم المهندسة وراثياً والتى تعبر بشكل فائق عن جين ProSys (Narva .z-vasquea and Ryan 2004) .

الدليل غير المباشر عن عملية التحلل البروتينى فيما بين الخلايا لمركب ProSys جاء من دراسة حديثة وفيها جين الكيميرك الذى يشفر بروتين ProSys المحور والمحتوى على تتابع ديكاببتيد لتربسين البعوض – نمذجة عامل oostatic (TMOF) فى مكان Sys تم التعبير عنه فى نباتات الدخان المهندسة وراثيا . جين proSys – TMOF الكيميريك تم نسخ وترجمته فى البروتين المحور داخل النسيج المهندس وراثيا وتم الكشف عن ديكاببتيد TMOF بواسطة HPLC وسبكترومترى الكتلة للرش الكهربى / HLPC) ESI – MS) فى المستخلصات من نسيج الدخان المهندس وراثيا والبروتوبلاست وليس فى المستخلصات من نباتات المقارنة البرية . لقد تم الكشف عن آثار من ببتيد TMOF فقط فى البيئة المحضنة من البروتوبلاست مما يوضح أن معظم أن لم يكن كل الببتيد الغريب موجود فى قطاعات داخل بروتوبلاست الخلية وكان يفرز فى البيئة الخارجية (Tortiglione et al . 2003) . لم يثبت وجود جين ProSys فى الدخان مما أدى إلى الاقتراح بأن ProSys يخلق ويجهز و / أو يخزن فيما بين خلايا أوراق الدخان ومن المحتمل أن يكون فى طراز مشابه لما يوجد فى الطماطم .

لقد أجرى فحص غربلة وراثية فى الطماطم لمعرفة مسار التأشير الطفرى فى Sys . لقد أسفرت هذه المجهودات عن تعريف طفرات عديدة غير قادرة على الاستجابة لمركب Sys والجروح أو حمض الجسمونيك JA . ولو أن الطفرات التي تؤثر على تجهيز ProSys لم تعرف بعد فشل اختبارات الغربلة لتعريف الجينات المطلوبة للتجهيز والقطاعية و/أو نقل ProSys أو Sys أدت إلى الاقتراح بأن مسار تجهيز ProSys تتضمن جينات قد تكون وفيرة أو مطلوبة لحيوية الخلية / النبات .



Immuno-cytochemical localization of ProSys and ProHypSys in vascular bundles of tomato leaves. Leaf samples from two-week-old tomato plants exposed for 18 hours to methyl jasmonate vapors were fixed and immuno-gold labeled as previously described (Narváez-Vásquez and Ryan 2004). (A) Silver-enhanced, immuno-gold labeled ProSys localized in vascular phloem parenchyma (PP) cells visualized under the confocal microscope. (B) Transmission electron micrograph showing immuno-gold labeled ProHypSys in the cell walls of PP cells (Narváez-Vásquez et al. 2005). Arrows point to gold particles. pp, phloem parenchyma; cc, companion cell; se, sieve elements; x, xylem vessel. Bars = A, 5.0 μm; B, 0.5 μm

شكل (٩-٢) : موضعية المناعة الخلوية الكيميائية لمركب Pro Sys و Pro Hp Sys في الحزم الوعائية في أوراق الطماطم . عينات الأوراق من نباتات الطماطم بعمر أسبوعين المعرضة لمدة ١٨ ساعة لأبخرة الميثيل جسمونات وثم تثبيتها وثم تعليم المناعة بالذهب كما ذكر سابقاً . (A) التحفيز بالفضة و Pro Sys المعلم إشعاعياً بالذهب – المناعة في خلايا (pp) البرانشيمية الموجودة في اللحاء الوعائي المرئية تحت الميكروسكوب متحد البؤر . (B) رسم بالميكروسكوب الإليكتروني الماسح يوضح Pro Hp Sys المعلم بالذهب في المناعة في جدر الخلايا لخلايا pp . الأسهم تشير إلى جسيمات الذهب . pp برانشيمية اللحاء ، cc الخلايا المصاحبة ، se عناصر الغربلة ، x أوعية الخشب . الخطوط = A ٥ ميكرومتر ، B ٠,٥ ميكرومتر .

٢-٣- مسار تأثير Sys : بروتين مستقبل Sys وهو SR160 تم عزله وكلونة الجين الخاص به SR160 ينتمي لعائلة كيفينيزيس مستقبل Ser/Thr مع تكرارات غنية بالليوسين Leu خارج الخلايا والذي وجد كثير الشبه بمستقبل براسنيوليد BR11 في الأرابيدويسيس (Scheer and Ryan 2002) . البراسينوليدينات Brassinolides عبارة

عن قسم من هورمونات ستيرويد النباتات مع أدوار مختلفة في تطور النبات وليس في دفاعات النبات . عزل مستقبل براسينوليد الطماطم أكد أنه هو مستقبل Sys كذلك . وظيفة SR160 كمستقبل للسيسثيمين تأكد بواسطة تعبير SR160 , DNA في نباتات الدخان . نباتات الدخان تعاني من نقص جين Pro Sys والإدراك الحسي للسيستيمين Sys . في نباتات الدخان المهندسة وراثياً يتم التعبير عن SR-160m RNA تكوينيا كما أن مستقبل الـ Sys هو موجود في الغشاء حيث ارتباط Sys والتنشيط المبكر لاستجابات الدفاع . هذا هو المثال الأول لمستقبل البروتين في النباتات الذي له وظيفة مزدوجة في الدفاع والتطور.

إحلال الألانين Ala وتحليل حذف بولي بيتيد Sys أظهر أن الأحماض الأمينية الثامنة عشرة ضرورية لتحقيق النشاط البيولوجي الكامل وأن منطقة النيتروجين الطرفية هامة في التمييز / الارتباط على مستقبل Sys بينما متبقيات الكربون الطرفية أكثر ضرورة لتحقيق النشاط (Pearce et al. 1993) بمجرد الارتباط على المستقبل الخاص به فإن Sys ينشط شلال معقد من حوادث التأثير مما يؤدي إلى تنشيط مبكر (مرتبط بالإشارات) ومتأخر (مرتبط بالدفاع) للجينات استجابة للجروح وإنتاج فوق أكسيد الايدروجين (H_2O_2) (Ryan 2000) . في أوراق الطماطم فإن Sys يسبب استقطاب سريع (خلال دقائق) لغشاء البلازما في خلايا الميزوفيل وقلوية الوسط خارج الخلية أو أبوبلاست جدار الخلية والزيادة الانتقالية في تركيزات الكالسيوم Ca^{+2} الحر السيتوبلازمي وتنشيط الميتوجين – كينيز البروتين المنشط (MAPK) وانفراد حامض لينولينيك (حمض أميني ١٨ : ٣) من أغشية الخلايا بواسطة تنشيط الفوسفوليبيز A_2 مما أدى إلى التخليق الحيوي لمركب OPDA وحمض الجسمونيك خلال مسار أوكتاديمانويد (Ryan 2000).

٢-٤- **السيستيمين وإشارة الجرح الجهازية** : استجابة الدفاع ضد جروح النبات التي تحدث من جراء هجوم الحشرات أو آكلات النباتات اكتشفت بواسطة الباحثان (Green and Ryan 1972) وتميزت بتراكم كيميائيات الدفاع ليس عند موضع التلف فقط (الاستجابة الموضعية) ولكن عند الأجزاء غير التالفة من النبات كذلك (استجابة جهازية) . هذا يوضح أن إشارة أو إشارات الجرح تنشأ عند مواضع التلف لتنشيط نسخ جينات الدفاع وتخليق المركبات مضادات التغذية خلال النبات .

Sys له خصائص إشارة الجرح الجهازية . عندما وضع Sys المعلم إشعاعياً في الجروح التي عملت على الأوراق فإن Sys تحمل في اللحاء وتنتقل جهازيا خلال النباتات في خلال ساعات قليلة بمسار مشابه لما يحدث في انتقال السكروز المعلم بالكربون ١٤ . بالإضافة إلى ذلك فإن التعبير الفائق للجين البادئ Pro Sys تحت تنظيم المحفز GaMV35S في نباتات الطماطم المهندسة وراثياً أدت إلى التراكم التكويني لمستويات

عالية من بروتينات الدفاع العديدة في الأوراق . التعبير الفائق لمركب Pro Sys في النباتات تنتج إشارة قابلة للنقل تنشط جينات الدفاع في الطعم البري . على العكس فإنه عندما عبر عن 35S : Pro Sys المتحول جينياً في توجيه مضاد للحس في نباتات الطماطم المهندسة وراثياً حدث خفض شديد في التنشيط الجهازي لجينات الدفاع المحفزة بالجروح وأصبحت النباتات أكثر حساسية للتلف بالحشرات . لذلك فإن نتيجة التراكم تعضد فرضية أن Sys مكون هام في الإشارة الجهازية المتحركة .

الدليل الوراثي الحديث أظهر أن حامض الجسمونيك JA أو الأوكسي ليبين المشتق لحمض الجسمونيك يعمل كإشارة جهازية للجروح وأن الدور الأساسي لمركب Sys يتمثل في التنظيم الفائق للتخليق الحيوي لحمض الجسمونيك (Howe 2005) . لقد ظهر ذلك باستخدام تجارب تطعيم متعاكسة مع طفرات الطماطم التي تعاني من نقص التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك وإدراك JA التي تعاني كذلك من نقص التأثير الجهازي بالجروح . لذلك تأكد أن العديد من إنزيمات مسار الأوكتاديكانويد توجد موضعياً داخل خلايا الحزمة الوعائية لأوراق الطماطم التي تتضمن AOC . AOC , AOS , LOX الطماطم هو إنزيم محدود المعدل المطلوب للتخليق الحيوي لحمض الجسمونيك المحفز بالجروح خلال تأثير Sys . لذلك فإن تخليق Sys و JA يرتبط باللحاء . تجارب التطعيم والموضعية أظهرت دور جديد لكلا Sys و JA في تكبير عملية التأثير الجهازي حيث تنتقل خلال الأوعية النباتية .

٣- جليكوببتيدات السيستيمين الغنية بالهيدروكسي برولين HYP Sys :

البحث عن الحزمة الوظيفية للسيستيمين Sys في الدخان باستخدام التقييم بالألكلة (Felix and Boller 1995) أدى إلى تعريف اثنان من ١٨ a-a جليكوببتيدات ذات فاعلية حيوية في فصلات HPLC المنقى المتحصل عليها من مستخلصات أوراق الدخان. الببتيدات المعزولة (تسمى Top Hyp Sys I & II) وجدت قادرة على تحفيز الكيلية الوسط في مزارع معلقات خلايا الطماطم وكذلك تنشيط كينيز 48-KDA MAP وتعبير جين الدفاع عندما وضعت مع أوراق الطماطم المقطفة عند تركيزات نانول مولر nM .

Top Hyp Sys I and II عبارة عن جليكوببتيدات غنية في الهيدروكسي برولين وهي مزودة بتسعة وستة وحدات نبتوز على التوالي (جدول ٩-١) . شقوق الجليكوسيل مطلوبة لتحقيق الفعل أو النشاط البيولوجي الكامل . Top Hyp Sys I and II مشتقة من بادئ منفرد من البولي بروتين ذات ١٦٠ من الأحماض الأمينية التي لها إشارة ببتيد تمثل المثال الأول . ببتيدات التأثير المتعددة المشتقة من نفس بادئ البروتين وهي صفة شائعة وجدت في الحيوانات (Tanaka 2003) .

لقد تم تنقية ثلاثة جليكوببتيدات Hyp Sys من أوراق الطماطم باستخدام طريقة التحليل الالكالينية نفسها مع معلق مزارع خلايا L.peruvianuro على التوالي . Hyp Sys الطماطم I , II , III لمتبقيات ٢٠ ، ١٨ ، ١٥ على التوالي مشتقة كذلك من بروتين بادئ منفرد ذات ١٤٦ من الأحماض الأمينية والذي يفرز بواسطة ببتيد إشاري متنبأ به (الشكل ٩-١-C) . جليكوببتيدات الطماطم تملك وحدات بنتوز ما بين ٨ ، ١٦ والتي تبدو كبقايا أرابينوز مرتبطة مع بقايا هيدروكسي – برولين (جدول ٩-١) . تتابعات الحمض الأميني في ببتيدات Top Hyp Sys II , I متشابهة جداً مع تسعة أحماض أمينية متطابقة مما أدى إلى الاقتراح بأنها تنتج من تضاعف جيني وحوادث إطالة على غرار Pro Sys.

وجود الببتيد الإشاري في كلا الدخان والطماطم في بادئات Hyp Sys والهيدروكسلة المترجمة اللاحقة للبرولين والجليكوسيلامثين توضح أن بادئات الببتيد الفعالة حيوياً تخلق خلال مسار الإفراز . الدراسات الخاصة بموضعية المناعة باستخدام الأجسام المضادة المنقاة والتي تميز epitopes فقط في بادئ Pro Hyp Sys للطماطم أوضحت أن البروتين الأولى يوجد موضعياً في جدر خلايا الطماطم في الخلايا البرانشيمية الوعائية في الورقة (الشكل ٩-٢-B) (Narvaez Vasquez et al. 2005) .

إشارات الجليكوببتيد متعددة Hyp Sys المشتقة من بادئات البروتين الإشاري وجدت كذلك في أنواع أخرى من العائلة الخبازية بما فيها البيتونيا وظل الليل والبطاطس . في كلا الطماطم والدخان وجد أن جينات Pro Hyp Sys تنظم بدرجة فائقة في الأوراق عندما تجرح بواسطة Sys و MeJA وببتيدات Hyp Sys نفسها . جين Pro Hyp Sys الدخان يحفز كذلك بواسطة ABA والحشرات القارضة وتلك التي تتغذى على اللحاء . في الطماطم وجدت مستويات تكوينية منخفضة من Hyp Sys mRNAs في الأوراق ولكن المستويات القاعدية وجدت عالية في الأعضاء الأخرى بما فيها الجذور . التعبير الفائق للجينات الأصلية Hyp Sys في الدخان والطماطم سبب تنظيم كبير تركيبي في كلا الجينات المرتبطة بالإشارات والدفاع في النباتات المهندسة وراثياً على غرار الجروح والسستيمين في الطماطم . نباتات الدخان المتحولة وراثيا 35 Si Hyp Sys كانت أكثر مقاومة لهجوم الحشرات . بالإضافة إلى ذلك فإن التنظيم المتدني لتعبير جين Tom Hyp Sys بواسطة التكنولوجيا مضادة الحس قللت كذلك من التحفيز الجهازي بالجروح لجينات الدفاع مما أدى إلى الاقتراح بأن Sys و Hyp Sys يعملا بالمشاركة للتنظيم الفائق لاستجابة الدفاع الجهازية بالجروح في الطماطم .

حوادث التجهيز المسئولة عن انفراد ببتيدات Hyp Sys في جدار الخلية استجابة للجروح مازالت غير معروفة . وجود تتابع N/GR عند نهايات النتروجين الطرفية لببتيدات Hyp Sys في الدخان والطماطم أدت إلى الاقتراح بأن هذه الأحماض الأمينية قد

تعمل كوسائط لإنزيمات بروتينيزيس خاصة في كلا النوعين (جدول ٩-١) . الجروح قد تسبب خلط البروتييزيس داخل الخلايا مع بادئ ببتيدات Sys في مادة جدار الخلية استتباعاً لتلف الخلية . الجروح أو التدفقات الأيونية المحفزة للسستيمين والتغيرات في درجة الحموضة في خلايا الورقة قد تحفز الإفراز و/أو تنشيط إنزيمات التجهيز في المادة خارج الخلايا . كبديل فإن الببتيديزيس المشتقة من المرض قد تشترك في تجهيز الببتيدات الفعالة حيوياً مما يؤدي إلى تنشيط تدفق إشارات الدفاع في أي حادثة فإن الانفراد من تحلل البروتين لإشارات الببتيد العديدة من بادئات البولي بروتين التي تقع في جدر الخلايا قد تكون من بين الحوادث النباتية المبكرة استجابة لهجوم الحشرات ومسببات الأمراض النباتية.

٤- الببتيدات المرتبطة بالدفاع في الأرابيدويسيس (AtPeps) :

AtPep 1 هو أول ببتيد داخلي مرتبط بالدفاع تم تنقيته من أوراق نباتات أرابيدوبسيس ثاليانا . ببتيد AtPep 1 يحتوي على ٢٣ حمض أميني ويشتق من الكربوكسي الطرفية لإشارة بادئ البروتين أقل من ٩٢ حمض أميني (الشكل ٩-١-D Pro AtPep 1) . AtPep 1 ينظم تعبير جينات الدفاع التي تحفز بواسطة الممرضات خلال مسار تأثير الأوكتاديكانويد . الجين الذي يشفر Pro AtPep 1 جزء من عائلة صغيرة تحتوي على الأقل سبعة أفراد في نباتات الأرابيدوبسيس مع سلسلة مشابهات في أنواع العديد من العائلات التي تشمل نباتات المحاصيل الهامة (جدول ٩-٢) . مدى حجم بروتينات البادئ المرتبطة مع Pro AtPep 1 المعروفة حتى الآن تتراوح بين ٧٥ وحتى ١٥٤ حمض أميني (جدول ٩-٢) . بناء على موضعها الكروموسومي فإن عائلة جين AtPep 1 في الأرابيدوبسيس قسمت إلى ثلاثة تحت عائلات . أفراد تحت العائلات I (Pro Atpep 1 , 2 , 3) و II (Prp AtPep 4 , 5 ,6) وضعت في مجاميع في موضعين مختلفين في الكروموسوم ٧ . وجين واحد فقط (Pro AtPep 6) ينتمي إلى تحت العائلة III ويقع على الكروموسوم II . بارالوجات أرابيدوبسيس تتقاسم الأحماض الأمينية العشرة SSG (K/R)X GXXN التي تأكد أهميتها لتحقيق النشاط الحيوي الكامل. من الملاحظ أن حمض الجلايسين GLY 17 هو الحمض الأميني الوحيد المتحفظ عليه في جميع الأنواع المعروفة من سلسلة مشابهات AtPep 1 (الجدول ٩-٢) . دراسات إحلال الآلانين أوضحت أن GLY 17 ضروري للنشاط الحيوي لمركب AtPep1 .

في الأرابيدوبسيس فإن جين Pro AtPep 1 يعبر عنه عند مستويات تكوينية منخفضة في جميع الأنسجة مع مستويات قاعدية عالية لوحظت في الأزهار والجذور . في الأوراق يتم تحفيز جين Pro AtPep 1 بواسطة الجروح والميثيل جسمونات والاثيلين .

أفراد عائلة أخرى من الجينات أظهرت نظم تعبير مشابهة في مدى عريض من الأنسجة وأتضح أنها تنظم بشكل فائق بواسطة الميثيل جسمونات MeJA . تحليل بيانات السلسلة الدقيقة للتعبير الجيني في نباتات الأرابيدوبسيس أظهرت أن بعض بارالوجات Pro AtPep1 تنظم في تباين بواسطة الممرضات البكتيرية والفطرية والمحفزات المشتقة من الممرض . إضافة AtPep 1 إلى أوراق الأرابيدوبسيس المقطوعة خلال البتلات المقطوعة أحدثت تنشيط للعديد من الجينات المشتركة في الدفاع ضد الممرضات مثل تلك التي تشفر للدفاع الديفنسين defensin (PDF – 1.2) وغيرها من البروتينات المرتبطة بالمرضية (PR) . تغذية الأوراق بمركب AtPep 1 سبب إنتاج فوق أكسيد الايدروجين H_2O_2 في الحزم الوعائية .

عندما يعبر بشكل فائق عن الجين Pro AtPep 1 في نباتات الأرابيدوبسيس تحت تنظيم المحفز 35S فإن جين ديفنسين المرتبطة بالممرض يعبر عنه تكوينياً والنباتات المهندسة وراثياً كانت أكثر مقاومة للعدوى بواسطة الممرض الذي يسكن التربة بيثيوم اريجيولار . نباتات المقارنة البرية المعدية تنمو بحجم صغير خاصة الجذور عما هو الحال مع النباتات المهندسة وراثياً . هذه النتائج توضح أن Pro AtPep 1 فائقة الإنتاج تجهز كي تطلق الببتيد الفعال حيوياً حتى ينشط تكوينياً استجابة الدفاع – الممرض في النسيج المهندس وراثياً . لم يشار إلى أي ببتيدات داخلية مثل تلك التي تنشط الجينات المرتبطة بالمناعة الأصلية في النباتات .

جدول (٩-٢) : مقارنة تتابعات الأحماض الأمينية في الكربون الطرفي لبارالوجات AtPep 1 والأورثولوجات المحتوية على تتابعات AtPep 1 المزعومة في النباتات . تتابع AtPep 1 (٢٣ متبقيات) ترتبط بالكربون الطرفية المختصرة من ٦ بارالوجات وسبعة أورثولوجات . الأحماض الأمينية للـ SS GR / KX GXXN توجد في جميع بارالوجات AtPep 1 موضحة بحروف كبيرة (مأخوذة من Huffakr et al. 2006 a , b) .

Peptide	Precursor gene code	C-terminal amino acid sequence	Precursor length (amino acids)
AtPep1	At5g64900	69-ATKVKAKQRGKEKVSSGRPGQHN*	92
AtPep2	At5g64890	74-DNKAKSKKRDKEKPSSGRPGQTNSVPNAAIQVYKED*	109
AtPep3	At5g64905	73-EIKARGKNKTKPTPSSGKGGKHN*	96
AtPep4	At5g09980	55-GLPGKKNVLKKSRESSGKPGGTNKKPF*	81
AtPep5	At5g09990	59-SLNVMRKGIRKQPVSSGKRGGVNDYDN*	86
AtPep6	At2g22000	53-ITAVLRRRPRPPPYSSGRPGQNN*	75

AtPep7	At5g09975	81-VSGNVAARKGKQQTSSGKGGGTN*	104
Canola	CD816645	74-VARLTRRRPRPP-YSSGQPGQIN*	95
Potato	CV505388	93-PTERRGRPPSRPKVGSGPPPQNN*	116
Poplar	CV23975	94-DAAVSALARRTPPVSRGGGGQTNTTTS*	121
Medicago	Bi311411	87-LSSMGRGGPRRTPLTQGPPPQHN*	111
Soybean	CD401281	93-ASLMATRGSRGSKISDGSGPQHN*	115
Rice1	CF333408	131-ARLRPKPPGNPREGSGGNGGHHH*	154
Rice2	AK111113	65-DDSKPTRPGAPAEGSGGNGGAIHTAASS*	93

لقد تم عـزل البـروتين المـرتبط مـع AtPep 1 (170-KD~) مـن الأغـشية الميكروسومية لمعلق خلايا الأرابيدوبسيس المزروعة بواسطة التعليم بالقابليـة الـضوئية Photoaffinity (Yamaguchi et al. 2006) . البـروتين يـربط مـشتق AtPep 1 الأيوديني مع kd ٠,٢٥ nM على غرار ثابت الارتباط لمشتق السيستيمين الأيوديني مـع المستقبل SR-160 الخاصة به (kd of 0.17 nM) . ميكروسـكوبي الكتلـة لمهـضوم الترتبك tryptic عرفت بروتين الارتباط كمستقبل شبيه البروتين كينيز لعدد ١١٢٣ مـن الأحماض الأمينية حيث تشفر بواسطة الجين At1g73080 في الأرابيدوبسيس . بروتين مستقبل AtPep 1 يسمى AtPepR 1 يحتوي على ٢٧ من تكرارات غنية بالليوسين وهي منطقة غشاء ناقل وأساس Ser / Thr بروتين كينيز داخل الخلايـا . مـشتق AtPep 1 المعلم إشعاعياً لا يرتبط بالأغـشية الميكروسـومية مـن طفرتـان مغروسـتان للجـين At1g73080 وخلايا معلق الدخان التي تحولت مع جين AtPepR 1 كانت قادرة علـى الارتباط مع AtPep 1 وأظهر استجابة الكينية تقليدية alkalinization . أوضحت هـذه النتائج أن PepR 1 هو مستقبل وظيفي . أربعة من بين سـتة مـشابهات AtPep 1 تـم تخليقها بناء على اختصار تتابع الحمض الأميني ذات الكربون الطرفي للبارالوجات Pro Pep 1 في نباتات الأرابيدوبسيس كانت فعالة بيولوجياً في تقيـيم الألكينيـة مـع خلايـا الأرابيدوبسيس . الببتيدات المخلقة الفعالة حيوياً كانت قادرة كذلك على المنافسة مع مشتق AtPep 1 المعلمة إشعاعيا للارتباط مع PepR 1 . لقد أدت هذه النتيجة إلى الاقتراح بأن Pep 1 قد يكون فعلياً المستقبل لخمسة على الأقل من سلسلة ببتيـدات AtPep 1 والتـي يمكن أن تنشأ خلال مهاجمة الممرض (Yamaguchi et al. 2006) .

٥- اعتبارات النشو :

اكتشاف إشارات الببتيد المرتبط بالدفاع التي تختلف وراثيا في العائلة الخبازية تعمل خلال نفس مسار تأثير الأوكتاديكانويد . لقد وسع البروفيـسور C.A.Ryan ومعـاونوه قاعدة تعريف السستيمين كي تشمل أي ببتيد إشاري من النباتات التي تنشط جينات الـدفاع النباتية. لذلك فإن هذا التعريف يجب أن يمتد إلى ببتيدات AtPep للأرابيدوبسيس والتـي

تنظم بشكل فائق بواسطة الجروح والممرضات لتنشيط الجينات المرتبطة بالدفاع ضد الممرض خلال مسار أوكتاديكانويد . مشابهات AtPep توجد كذلك في نباتات العائلة الخازية (جدول ٩-٢) .

لا يوجد تتابع متشابه بين بادئات بروتين Hyp Sys , Sps وببتيدات Atpep 1 (الشكل ٩-١) . لقد وجدت ببتيدات Hyp Sys , Sps فقط فى أنواع العائلة الخبازية ولوأن استجابة الدفاع الجهازية بالجروح محدودة الوجود فى النباتات . حتى بادئات HypSys فى الطماطم والدخان فقط تتقاسم كمية محدودة من الحمض الأمينى (قارن الشكل ٩-١ C , B) . هذا ولو أن الببتيدات النشطة حيوياً أظهرت بعض درجات التحفظ مما أدى إلى الاقتراح بأنها ذات أصل شائع . كمثال فإنها غنية فى بقايا البروتين / هيدروكسى برولين والسيرين والثريونين وهى تكتسح بواسطة أحماض أمينية مشحونة (الجدول ٩-١) . جليكوببتيدات Hyp Sys تحتوى على -DOS وهى تحورات لاحقة للترجمة تشتق من -PPS- حوافر أولية للترجمة توجد كذلك فى At pep 1 . Sys يعانى من نقص هذا الحافز ولكن بعض برالوجات Atpep 1 والأورثو لوجات عبارة عن ببتيدات غنية بالبرولين ومشحونة بشكل كبير (جدول ٩-٢) . من المعروف أن مخلفات البرولين تعمل على توجيه تركيبى فى السلاسل الأساسية للببتيدات الفعالة بيولوجياً الهامة لإحداث تداخلات روابط الببتيد مع مستقبلاتها (Rath et al., 2005) .

على غرار الببتيدات المرتبطة At pep 1 , Sys إنها تخلق من بروتينات بادىء أكبر والتى تعانى من نقص تتابع التأشير التقليدى . بالإضافة إلى ذلك فإن بادئات Atpep عبارة بروتينات مشحونة عالياً مع شرائط من بقايا الليسين (K) وحمض الجلوتاميك (E) التى تتطابق مع الواحدات شبيهة KEKE حيث وجدت كذلك فى ProSys (الشكل ٩-١ D , A) . بسبب هذا الوضع والتشابهات التى ذكرت أعلاه فقد افترض أن إشارات الببتيد التى تنشط استجابات الدفاع ضد الممرضات النباتية وآكلات النباتات قد تنشأ من جين سلفى شائع . حوادث الطفرية مثل غرس الجين المتبوع بحوادث الإطالة والتضاعف يبدو وأنها تشترك فى نشوء بادئات تأشير الببتيد فى النباتات . هذا قد يفسر لماذا أن بادئات الهورمون الأولى المرتبط ببتيدات الدفاع يحدث له تشعب سريع عن الببتيدات النشطة حيويا فعليا .

حيث أن ببتيدات Atpep 1 منتشرة بشكل عريض فى المملكة النباتية فإنها قد تكون نشأت قبل السيستيمنات فى العائلة الجنازية . حيث أن ببتيدات Hyp Sys توجد فى معظم أنواع العائلة الجنازية والمركب Sys فقط يوجد فى تحت قبائل العائلة الجنازية فإن ببتيدات Hyp Sys يبدو وأنها نشأت مبكراً عن Sys . من الممكن أن مستقبل البراسيتوليد نشأ فى البداية ثم حدث له تعزيز متأخراً كى يسهل تأشير السيستيمين . من المثير للاهتمام روية ما إذا كانت ببتيدات HypSys تتداخل مع مشابهات مستقبل Sys أو لها مستقبلات مختلفة . لقد لوحظ أن التعبير الفائق لجينات ProSys فى الطماطم إذا عبرت عنها فى

البطاطس المتحولة وراثياً تسبب تراكم بروتينات تنظيم التطور فى الدرنات . الرابطة بين مسارات التأشير المشتركة فى تطور ودفاع النباتات غير مفهومة جيداً حتى الآن .

الرؤى والمنظورية

لقد أدت الأدلة المتوفرة إلى الاقتراح أن هورمونات الببتيد المرتبطة بالدفاع تلعب دوراً أولياً فى تكبير الإشارات الناتجة من الحشرات وهجوم الممرضات فى النباتات من خلال تنشيط مسار الإشارات المعتمد على الليبيد فى اللحاء . الغرض الأساسى يتمثل فى التراكم الجهازى السريع للمواد الطاردة وعوامل مضادات التغذية خلال النبات والتى تقلل وتحد من جودة الغذاء وتخفض من النمو و / أو تمنع تكوين مستعمرات الكائنات الغازية . ميكانيكية الإشارات المعتمدة على الببتيد ما هى إلا مشتقات لتنشيط الاستجابة الدفاعية الحادة بالجروح أو الالتهابات المعال بواسطة سيتوكينات الببتيد مثل الانترليوكينات و TNF - @ خلال مسار إشارات ايكوسانويد فى الحيوانات .

بالرغم من الدراسات المكثفة فى النظم الحيوانية والخميرة إلا أن تنظيم التخليق والتجهيز والتخزين والإفراز لإشارات التأشير فى النباتات مازالت فقيرة الفهم . مواقع التجهيز التى تحرر وتفرد الببتيدات النشطة غير معروفة ولا طبيعية الببتيديزيس المشتركة. الميكانيكية التى ينفرد بها Atpep 1 , Sys فى أبوبلاست جدار الخلية مازالت غير معروفة .حوالى نصف دستة من عائلات هورمونات النبات الببتيدية تم تعريفها حتى وقتنا هذا ووجد أنها تخلق من البادئات التى تعانى من نقص التأشير مما أدى إلى الاقتراح بأنه فى الغالب أكثر منه فى الحيوانات والخميرة الببتيدات المنظمة النباتية وتنتقل خلال ميكانيكيات غير تقليدية إلى الفراغ خارج الخلايا (Nickel 2003) . الدراسات اللاحقة عن النشوء الحيوى لهورمونات الببتيد المرتبطة بالدفاع واكتشاف إشارات ببتيد جديدة ومستقبلاتها سوف تقدم دليل أكبر عن نشوء نظم ببتيد الدفاع فى ذوات النواة الحقيقية من السلف الشائع .

Reference

Bergey DR, Howe GA Ryan CA (1996) Polypeptide signaling for plant defensive exhibits analogies to defense signaling in animals , Proce Natl Acad Sci USA 93 : 12053 – 12058

Coffeen WC , Wolpert TJ (2004) Purification and characterization of serine proteases that exhibit caspase – like activity and are associated with programmed cell death in Avena sativa . plant Cell 16 : 857 – 873

Dombrowski JE , Pearce G, Ryan CA (1999) Proteinase inhibitor – inducing activity of the prohormone prosystemin resides exclusively in the C-terminal systemin domain . Proc Natl Acad Sci USA 96 : 12947 – 12952

Felix G , Boller T (1995) Systemin induces rapid ion fluxes and ethylene biosynthesis in Lycopersicon peruvianum cells . plant J 7 : 381 – 389

Green TR , Ryan CA (1972) Wound – induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects . Science 175 : 776 – 777

Howe GA (2005) Jasmonates as signals in the wound response . J Plant Growth Regul 23 : 223 – 237

Huffaker A , Pearce G , Ryan CA (2006a) An endogenous peptide signal in Arabidopsis activates components of the innate immune response . Proc Natl Acad Sci USA 103 : 10098 – 10103

Matsubayashi Y , Sakagami Y (2006) peptide hormones in plants . Ann Rev plant Biol 57 : 649 – 674

Nickel W (2003) The mystery of nonclassical protein secetion – A current view on cargo proteins and potential export routes . Eur J Biochem 270 : 2109 – 2119

Orozco – Cardenas ML, McGurl B , Ryan CA (1993) Expression of an antisentse prosystemin gene in tomato plants reduces resistance toward Manduca sexta larvae . proc Natil Acad Sci USA 90 : 8273 – 8276

Pearce G , Strydom D, Johnson S, Ryan CA (1991) Apolypeptide from tomato leaves activates the expression of proteinase inhibitor genes . Science 253 : 895 – 898

Ryan CA ,(2000) The systemin signaling pathway ; differential activation of plant defensive genes . Biochim Biophys Acta 1477 : 112 – 121

Schaller A (1998) Action of proteolysis – resistant systemin analogues in wound signaling phytochemistr 47 : 605 – 612

Tanaka S (2003) Comparative aspects of intracellular proteolytic processing of peptide hommone precursors ; studies of proopiomelanocortin processing . Zool Sci 20 : 1183 – 1198

Walling LL (2006) Recycling or regulation ? The role of amino – terminal modifying enzmes . Curr opin plant Biol 9 : 227 – 233

Yamaguchi Y , Pearce G , Ryan CA (2006) The cell surface leucine – rich repeat receptor for Atpep 1 , an endogenous peptide elicitor in Arabidopsis , is functional in transgenic tobacco cells . Proc Nat Acad Sci USA 103 : 10104 – 10109

Zhang L , Kelley J, Schmeisser G , Kobayashi YM , Jones LR (1997) Complex formation between junction , triadin , calsequestrin , and the ryanodine receptor – proteins of the cardiac juctional sarcoplasmic reticulum membrane . J Biol Chem 272 : 23389 – 2339

ثانياً : إنزيمات الكينزيس بروتين المنشط بالميتوجين فى الاستجابة لآكلى النباتات

MAP Kinases in Plant Responese to Herbivory

Johannes Stratmann

إنزيمات الكينزيس بروتين المنشط بالميتوجين (MAPKs) عبارة عن إنزيمات محولة للإشارات التى تشترك فى العديد من استجابات النباتات للبيئة بما فيها استجابات الدفاع ضد آكلات النباتات . الحشرات ملتهمة النباتات تخلق إشارات أولية مختلفة مشتقة من النباتات والحشرات كما هو الحال مع إشارات النبات من ببتيد السيستيمين وإشارات الجروح ومقترنات الحمض الدهنى – الحمض الأمينى . هذه الإشارات تنشط حزمة من MAPKs الخاصة . خفض وظيفة هذه الإشارات MAPKs يعطل تخليق إشارات الإجهاد الثانوية بما فيهاإشارة الجرح الفاتحة لحمض الجسمونيك المطلوب لإحداث التنظيم الفائق لبروتينات الدفاع . بالتتابع فإن فقد وظيفة MAPK يؤدى إلى خفض مقاومة النباتات ضد الحشرات آكلة الأوراق . MAPKs المستجيب للحشرات يعمل كإشارات ضرورية فى استجابات الدفاع للممرضات والإجهاد اللا حيوى من التحديات الكبرى أمام الباحثين فى المستقبل حل لغز الميكانيكات الجزيئية التى تدرك وتتكامل مع إشارات الإجهاد لخلق نظم تأشير MAPK الخاص المنشط والتى تؤدى إلى استحثاثات دفاع خلوية .

J. Stratmann

Depatrment of Biological Sciences , University of South Carolina , SC 29208 , USA

e-mail : johstrat@biol.sc.edu

A. Schaller (ed.), Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١ – مقدمة

توجد ثروة من المعلومات عن الجينوم أدت إلى إظهار الدور الرائد للبروتين كينيزيس فى تنظيم العمليات الخلوية . الموقع الالكترونى النشط المسمى Plant P مكرس لدراسات فسفرة النبات وقد أشار إلى أن جينوم الارابيدوبسيس يحتوى على حوالى ١٠٠٠ بروتين كينيزيس مزعوم تكون خمسة أقسام كبرى بمجموع ٨٠ عائلة متميزة .

http://plantsp.genomic.purdue.edu/html

خلافاً لما هو موجود فى الحيوانات والخميرة فإن الفسفرة الخاصة للتيروسين نـادراً ما تحدث فى النباتات . غالباً فإن جميع البروتين كينيزيس تكـون Ser / Thr كينيـزيس خاصة. لقد تم تعريفها تركيبياً بواسطة وجود ١٢ تحت مجال محفوظة تكون مركز تحفيز الإنزيمات . حقل أو مجال الكينيز فى الغالب يمتد طرفياً بالنتروجين والكربون بواسـطة حقول أو مجالات بروتين أخرى (Hants and Hunter , 1995) . العديد فى البروتين كينيزيس أصبحت منشطة بواسطة الفسفرة عبر كينيزيس أخرى وتفقد نشاطها بواسطة فقد الفسفرة Dephosphory lation عبر بروتين فوسفاتيزيس والذى يضم حوالى ٣٠٠ فرد فى جينوم أرابيدوبسيس (Phnt P) .

من المعروف أن الفسفرة العكسية Reversible ما هى إلا جـزء مـن مـسارات الإشارات العديدة التى تنظم عمليات التطور واستجابات النباتات للبيئة . فى هـذا المقـام سوف نتناول توضيح دور سيول الميتوجين – بروتين كينيز المنـشط (MAPK) فـى استجابات النباتات للحشرات آكلات الأوراق وللجروح الميكانيكية . لفهم وظيفة MAPKs يكون من المهم ملاحظة أن العديد من الاستجابات النباتية لعوامل الإجهاد تتـداخل عنـد مستويات متفاوتة فى تحول الإشارة والاستجابات الخلوية . تحليل النسيج العالمى أظهرت وجود تداخلات بين مظاهر التعبير الجينى الذى يحفز بواسطة منشطات إجهـاد مختلفـة وكذلك بواسطة التعبير الجينى ذات المنشط الخاص (Cheong et al., 2002) . يبدو أن عدد محدود من إشارات الإجهاد الثانوية مثل التـدفق الأيـونى (مثـل Ca^{2+} , H+) ، وحامض الجسمونيك (JA) والاثيلين وأنـواع الأكـسجين النـشط (ROS) وحمـض ساليسيليك (SA) تعمل وظيفياً فى مسارات تأشير متعددة التى يمكن أن تحفـز تركيبيـاً ووظيفياً إشارات إجهاد متنوعة . من المعروف أن MAPKs تعمل كنقاط تجمع لإشارات الإجهاد المتعددة . تداخل وتنسيق هذه المكونات الإشارية يعتقد حدوثها فى شبكة تأشـير حيث عناصر التأشير المتعددة تتداخل داخلياً بشكل قوى ويؤثر كلا منها على الآخر ويجب أن يؤخذ فى الحسبان أن MAPKs تعمل استجابة للجروح وتعمل كذلك فـى مـسارات تأشير الإجهاد الأخرى .

قليل من الدراسات تناولت دور MAPKs وغيره من البروتين كينيزيسز اسـتجابة للضرر الذى يحدث للنباتات من جراء هجوم الحشرات آكلة النباتات . لقد ركزت معظـم الدراسات على دور البروتين كينيزيس فى الاستجابة لجرح ورقة النباتات بوسيلة ميكانيكية مثل قاطع النزف (المرقأة) أو الملاقط للعصر أو أمواس العلاقة للقطع أو الصنفرة لكشط سطح الورقة . لقد لوحظ أن الجروح الميكانيكية والجروح بواسطة الحـشرات القارضـة تؤدى إلى خلق العديد من إشارات الجروح الأولية مثل الإشارات الجهازية التـى تـتفحم سريعاً سواء الإشارات الهيدروليكية والكهربية (Rhodes et al. 1996,Malone 1996) والببتيدات مثل السيستيمين والسيستيمنات الغنية بالهيدروكسى بـرولين (Peatce and

Ryan , 2005) . بالإضافة إلى ذلك فإن الحشرات تخرج مقترنات للحمض الـدهنى – الحمض الأمينى أو غيرها من المحفزات الخاصة بالحشرات مثل بيتا – جلوكوسيديز فـى مواقع الجروح حيث تعمل كمحفزات لاستجابات الدفاع المباشرة وغير المباشـرة . مـع بعض الحشرات فإن التنشيط الميكانيكى الذى ينتج بواسطة فكوك الحشرة وحده قد يكـون كافيا لتحقيق استجابة دفاعية كاملة للجروح ومقاومة الحشرات بالإضافة إلى ذلـك فإنـه خلافا للجروح التى تحدث بالحشرات فإن الجروح الميكانيكية تسبب إجهاد جفاف للأوراق المجروحة مع تنشيط متلازم للاستجابات المرتبطة بإجهاد الماء . إذا تم تنشيط البـروتين كينيزيس كتتابع لحدوث الجروح بوسائل ميكانيكية فإنه من غير الواضح مـا إذا كانـت إشارة التنشيط الفعلية حقيقة الوجود وما إذا كانت وثيقة الصلة بالاستجابات للجرح المحفز بواسطة الحشرات .

الحشرات القارضة تمثل طائفة واحدة فقط من بين الحشرات ملتهمة النباتات بـالنظر لميكانيكيات تلف النبات فإنها لا تمثل دوراً شائعاً كما هو الحال مـع الحـشرات الثاقبـة الماصة مثل المنّ والذباب الأبيض والتربس . هذه المجموعة مـن الحـشرات تـستخدم استراتيجيات متطورة لمص وشرب محتويات الخلايا واللحاء . المنشط الفعلى للجرح أكثر ضيقاً وينتج بواسطة مسابير معقدة خاصة تستطيع اختراق الخلايا الفردية . هذا ولـو أن الحشرات الثاقبة الماصة تستطيع تنشيط مسارات الدفاع التى يمكـن أن تحفـز بواسـطة الممرضات الميكروبية والنيماتودا والحشرات القارضة (Li et al. 2002b , 2006) .

إنزيمات بروتين فوسفاتيزيس تزيل مجاميع الفوسـفات مـن MAPKs ومـن ثـم تنشطها. مع قليل مـن الاسـتثناءات (Sea et al. 2007 , Xu et al, 1998) فإنـه لا يعرف إلا القليل عن دور البروتين فوسفاتيزيس فى الاستجابات النباتية للجـروح وآكلـى النباتات . هذا حقيقى كذلك مع وسائط البروتين لإنزيمات MAPKs والكينيزيس المتدفقة التى تنشط MAPKs لذلك فإن هذه المجاميع من البروتينات لن تناقش بالتفصيل فى هـذا المقام ولو أنها هامة فى فهم دور ووظيفة MAPKs .

٢ – MAP كينيزيس فى استجابات النباتات لآكلى الأوراق

٢-١- شلالات أو سلاسل الميتوجين المنشطة للبروتين كينيز

شلال MAPKs عبارة عن سلسلة ذات أطر ثلاثة من الفوسفوريك التى تستهل وتبدأ بواسـطة MAPKs كينيـز كينيـز (MAPKKK وتعـرف كـذلك MEKK) . MAPKKKs تنشط فى الغالب من تتابع مستقبل يعول الإدراك الحسى لإشارات الإجهاد. هذه السلسلة تفسفر ومن ثم تنشط MAPKs (MAPKKs يطلق عليها كذلك NEKs أو MKKs) على مخلفات اثنين Ser / Thr فى حزمة تنشيط الكينيز . MAPKKs عبارة عن كينيزيس مزدوجة التخصصية التى تنشط MAPKs (تعرف كذلك MPKs) خلال

فسفرة بقايا الثريونين والثيروسين فى حافز الفسفرة الذى يقع فى فص تنشيط MAPKs بين تحت وحدات الكينيز VII , VIII (Ichimura et al. 2002) . فى النباتات فإن MAPKKs هى البروتين كينيزيس الوحيدة المعروفة جيداً والتى تفسفر مخلفات الثيروسين. بعض MAPKs تنظم فى النسخ ولكن تنشيط ما بعد النسخ للـ MAPKs المتكون قبلا غير الفسفرة فى الغالب يسبق تنشيط النسخ وهو مطلوب لنشاط الكينيز . هذا قد يفسر لماذا أن التحليل الدقيق كشف فقط عن عدد صغير من نسخ الكينيز تنظم كثيراً استجابة لمهاجمة النباتات بواسطة ديدان عامة وخاصة فى الأرابيدوبسيس (Reymond et al. 2004) . MAPKs عبارة عن Ser / Thr كينيزيس والتى تفسفر مدى من بروتينات الوسيط العصارى والنووى الذى يعمل فى التمثيل والنسخ على الأقل فى خلايا الخميرة . فى النباتات لم يعرف إلا القليل من الوسائط فى الداخل ولكن الصورة تشير إلى توافق مع النماذج الحيوانية .

جينيوم النبات يحتوى عدد كبير من MAPKs مثل ٢٠ فى الأرابيدوبسيس ، ٢١ فى الحور ، ١٥ فى الأرز (Hamel et al. 2006) ولكنها تحتوى نصف العدد من MAPKKs . عدد NAPKKKs الفعالة وظيفياً متضارب (Chempion et al.2004) وقد تزيد عن ٦٠ كينيزيس من مختلف عائلات الجين . الوظيفة العامة وتمثيل الجينوم لشلال MAPKs تم وضعها بصورة جيدة فى (Champion et al. 2004 ; Hamel et al . 2006 , Ichimura et al. 2002) .

الدراسات المقارنة للنشوء الوراثى Phylogenetic للـ MAPKs النباتية أظهرت اثنان من النظم الكبرى أحدهما يتميز بوجود فسفرة TEy والآخر بواسطة TDy . من بين ثنائية الفلقات فإن أفراد النظام TEy فقط معروف أنها تستجيب للجروح . هى تقع فى ثلاثة تحت مجاميع متميزة A1 , A2 , B1 . لا يوجد أى من MAPKs تنشط حصرياً بواسطة الجروح أو إشارات الجروح . من الصفة العامة التى تميز MAPKs أنها تستجيب لمدى عريض من المنبهات والإشارات . استجابة MAPKs TDy للجروح تم تعريفها كذلك فى استجابة الجرح وقد تم تناولها حديثاً ولن نتناولها فى هذا المقام .

٢-٢- MAPK المحفزة بالإجهاد (SIPK) وبالجروح (WIPK)

من أفضل الدراسات عن MAPKs النباتية المحفزة بالإجهاد (SIPK) و MAPKs المحفزة بالجروح (WIPK) تلك التى أجريت على الدخان ومشابهاتها فى الأرابيدوبسيس والبرسيم والبقدونس والطماطم هذه تنتمى إلى تحت مجاميع A1 , A2 على التوالى . معظم إشارات الإجهاد التى تنشط SIPK تنشط WIPK كذلك (Nakagami et al. 2005) . ويزداد نشاط SIPK استجابة لأى خلل فى البيئة الخلوية

References

Abdeen A, Virgos A, Olivella E, Villanueva J, Aviles X, Gabarra R, Parl S (2005) Multiple insect resistance in transgenic tomato plants over-expressing two families of plant proteinase inhibitors. Plant Mol Biol 57:189-202

Beekwilder J, Schipper B, Bakker P, Bosch D, Jongsma M (2000) Characterization of potato proteinase inhibitor II reactive site mutants. Eur J Biochem 267:1975-1984

Bode W, Huber R (2000) Structural basis of the endoproteinase-protein inhibitor interaction. Biochem Biophys Acta 1477:241-255

Brito LO, Lopes AR, Parra JRP, Terra WR, Silva MC (2001) Adaptation of tobacco budworm Heliothis virescens to proteinase inhibitors may be mediated by the synthesis of new proteinase. Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol 128:365-375

Clauss MJ, Mitchell-Olds T (2004) Functional divergence in tandemly duplicated Arabidopsis thaliana trypsin inhibitor genes. Genetics 166:1419-1436

De Leo F, Gallerani R (2002) The mustard trypsin inhibitor 2 affects the fertility of Spodoptera littoralis larvae fed on transgenic plants. Insect Biochem Mol Biol 32:489-496

Ferry N, Edwards MG, Gatehouse J, Capell T, Christou P, Gatehouse AMR (2006) Transgenic plants for insect pest control: a forward looking scientific prespective. Transgenic Res 15:13-19

Girard C, Le Metayer M, Bonade-Bottino M, Pham-Delegue MH, Jouanin L (1998) High level of resistance to proteinase inhibitors may be conferred by proteolytic cleavage in beetle larvae. Insect Biochem Mol Biol 28:229-237

Green TR, Ryan CA (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves – possible defense mechanism against insects. Science 175:776-777

Hilder VA, Gatehouse AMR, Sheerman SE, Barker RF, Boutler D (1987) A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco. Nature 330:160-163

Iwai K, Fushiki T, Fukuoka S (1988) Pancreatic-enzyme secretion mediated by novel peptide: monitor peptide hypothesis. Pancreas 3:720-728

Jongsma MA, Bolter C (1997) The adaptation of insects to plant proteinase inhibitors. J Insect Physiol 43:885-895

Kunitz M (1946) Crystalline soybean trypsin inhibitor. J Gen Physiol 29:149-154

Liu YL, Salzman RA, Pankiw T, Zhu-Salzman K (2004) Transcriptional regulation in southern corn rootworm larvae challenged by soyacystatin N. Insect Biochem Mol Biol 34:1096-1077

Michaud D (1997) Avoiding protease-mediated resistance in herbivores pests. Trends Biotechnol 15:4-6

Moon J, Salzman RA, Ahn JE, Koiwa H, Zhu-Salzman K (2004) Transcriptional regulation in cowpea bruchid guts during adaptation to a plant defense protease inhibitor. Insect Mol Biol 13:283-291

Nauen R, Sorge D, Sterner A, Borovsky D (2001) Tmof-like factor controls the biosynthesis of serine protease in the larval gut of Heliothis virscens. Arch Insect Biochem Physiol 47:169-180

Pereira PJB, Bergner A, Macedo-Ribeiro S, Huber R, Matschiner G, Fritz H, Sommerhoff CP, Bode W (1998) Human B-tryptase is a ring-like tetramer with active sites facing a central pore. Nature 392:306-311

Qu LJ, Chen J, Liu MH, Pan NS, Okamoto H, Lin ZZ, Li CY, Li DH, Wang JL, Zhu GF, Zhao X, Chen X, Gu HG, Chen ZL (2003) Molecular cloning and functional anaylsis of a novel type of Bowman-Birk inhibitor gene family in rice. Plant Physiol 133:560-570

Ryan CA (1990) Protease inhibitors in plants – genes for improving defenses against iinsects and pathogens. Ann Rev Phytopathol 28:425-449

Song HK, Suh SW (1998) Kunitz-type soybean trypsin inhibitor revisited: refined structure of its complex with porcine trypsin reveals an insight into the interaction between a homologous inhibitor from Erythrina caffra and tissue-type plasminogen activator. J Mol Biol 275:347-363

Tortiglione C, Fogliano V, Ferracane R, Fanti P, Pennacchio F, Monti LM, Rao R (2003) An insect peptide engineered into the tomato prosystemin gene is released in transgenic tobacco plants and exerts biological activity. Plant Mol Biol 53:891-902

Volpicella M, Ceci LR, Gallerani R, Jongsma MA, Beekwilder J (2001) Functional expression on bacteriophage of the mustard trypsin inhibitor MTI-2. Biochem Biophys Res Commun 280:813-817

Yang L, Fang ZY, Ducke M, van Loon JJA, Jongsma MA (2008) The diamondback moth, Plutella xylostella specifically inactivates Mustard Trypsin Inhibitor 2(MTI2) to overcome host plant defense (submitted).

Zimmermann P, Hirsch-Hoffmann M, Hennig L, Gruissem W (2004) Genevestigator. Arabidopsis microarray database and analysis toolbox. Plant Physiol 136:2621-2632

مثبط معروف لتخليق JA والتأشير (Doares et al. 1995) ؟ لقد خلص البحاث إلى أن هذا غير وارد حيث أن خمود WIPK , SIPK فقط لا تؤدى إلى تخليق SA لأنه عندئـذ تكون مستويات JA أقل كثيراً عما هو الحال مع نباتات المقارنة . مازال هناك تحدى لحل تضارب النتائج المختلفة التى تحصل عليها باستخدام RNAi أو الخفض المرافق للـ WIPK . حيث أن WIPK , SIPK من النقاط المتنوعة للعديد من إشارات الإجهاد التى تعمل فى شبكة التأشير فإن النسبة بين مستويات SIPK إلى WIPK والتى يحتمل أن تختلف فيما بين الخطوط المختلفة ذات MAPKs الخامدة قد تكون ذات أهمية لخلق استجابات مناسبة .

٢-٣- Le MPK1 , Le MPK2 , Le MPK3

فى الطماطم فإن الاستجابة للجروح تعال بواسطة إشارات ببتيد السيستيمين المحفز بالجروح . السيستيمين ضرورى وكافى للدفاع الناجح فى نباتات الطماطم ضد الحشرات ملتهمة النباتات كما أتضح من تثبيط مضاد الحس ومن تجارب التعبير الفائق للبروسيستمين (MeGurl et al. 1994) . فى الاستجابة لجرح ورقة النبات أو المعاملة بالسيستيمين خلال السيقان المقطوعة يزداد نشاط MAPKs خلال دقائق فى نظام جهازى . قطع الساق نفسه يحدث تحفيز سريع لنشاط MAPKs فى الأوراق مما يوضح أن الإشارة الميكانيكية السريعة المكبرة والتى يحتمل أن تكون ذات طبيعة هيدروليكية تسبب التنشيط الجهازى للكينيزيس MAPKs . قطع الساق وحده يحفز زيادة انتقالية فى نشاط MAPKs والذى يدوم حوالى ١٥ دقيقة . فى وجود ببتيد السيستمين كان نشاط MAPKs أقوى وأكثر إطالة دوام (أكثر من ٦٠ دقيقة تنشيط MAPKs بواسطة السيستيمين يعتمد على المستقبل) . مشتق السيستمين الذى يرتبط بمستقبل السيستيمين SR 160 دون أن ينشطه يمنع تنشيط MAPKs المحفز بالسيستيمين (Strtmann and Ryan 1997) . بالإضافة إلى ذلك فإن مركب النافثيل يوريا سورامين وهو مثبط معروف لتداخلات مستقبل سيتوكين – سيتوكين فى الحيوانات أتضح أنه يمنع ارتباط السيستيمين مع SR 160 ويوقف تنشيط MAPKs . تنشيط MAPKs المحفز بالجروح أو السيستمين لم يتغير فى طفرة def 1 التى تعانى نقص JA مما يؤدى إلى القول بأن MAPKs تعمل سواء على تخليق JA أو فى مسار موازى . نشاط MAPKs المحفز بالسيستمين وتخليق PI – II يعطى نفس منحنى العلاقة بين الجرعة والاستجابة مما يوضح أن MAPKs تعمل فى مسار اشارى يؤدى إلى تعبير جينات الاستجابة للجروح . أخيراً أتضح أن السيستيمين والجروح تنشط ثلاثة MAPKs يطلق عليها Le MPK1 و Le MPK2 و Le MPK3 (مع MAPK Lycoperison e Sculentum) . والتى تمثل مشابهات أو

أورثولوج الطماطم لـــ WIPK , Ntf4 , SIPK على التوالى (– Holley et al. 2003 . (Higgins et al. 2007

الجروح تولد أو تنتج إشارات متفاوتة واستخدام السيستمين خلال السيقان المقطوعة تتضمن منبه أو حاث الجرح Wound stimulus . لدراسة الاستجابات الخاصة بالسيستمين تم استخدام النباتات المتحولة وراثيا التى تعبر بشكل فائق عن البروسيستمين تحت سيطرة المحفز 35 S . هذه النباتات تظهر تراكم تكوينى لمثبطات البروتينيز وقد استخدمت مبكراً لتعريف التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك JA وطفرات التأشير كمخفضات الاستجابات المعالة بالبروسيستمين (Spr mutaats) إخماد جينات Le MPK1 و Le MPK2 و Le MPK3 فى هذه النباتات المتحولة وراثيا بواسطة جين الخمود المحفز بالفيروس (VIGS) مما يؤدى إلى خفض مستويات مثبطات بروتينيز الدفاعية . لقد أظهرت ذلك أن وظيفة MAPKs هذه مطلوبة تعبير الجين المحفز بالبروسيستمين . الخمود المرافق ل ـــ Le MPK 1/2 فى نباتات : 35 S prosystemin أحدث خفض فى تخليق JA استجابة للجروح واستكمال نباتات الخامدة Le MPK1/2 مع المثيل جسمونات (MeJA) والتى تعوض تخليق مثبط البروتينيزي . هذه البيانات تعضد دور Le MPK 1/2 فى تنظيم تخليق JA . هذا يتوافق مع التجارب التى أظهرت أن نشاط MAPK لا يزداد بعد استخدام JA أو بادئه ١٢ – أوكسو – فيتو داينويك آسيد . حيث أنه تأكد أن أورثولوج LeMPK3 والمعروف WIPK مطلوب لتخليق JA فى الدخان فإنه يحتمل أن السيستيمين ينشط على الأقل ثلاثة من MAPKs الذى يعمل ضد تخليق JA .

Le MPK2 , Le MPK1 بهما تطابق بنسبة ٩٥% على مستوى الحمض الأمينى وهما تنشطا فى نظام متوافق بواسطة مدى من إشارات الإجهاد مثل محفزات الأوليجوسكريات والجروح والإشعاع بالأشعة فوق البنفسجية B وتوكسين الفطر المعروف بالاسم Fusicaccin مما أدى إلى الاقتراح بأنها تعمل وظيفياً بوفرة (Holley et al. 2003) . من المدهش ما وجد من أن كلاهما مطلوبان لتنشيط جين الدفاع بواسطة السيستيمين . VIGS لأى من Le MPK1 أو Le MPK2 تخفض مستويات مثبط البروتينيز فى نباتات 35 S : Pro spstemin . يوجد دليل بأن SIPK ينشط WIPK بواسطة تنظيم تعبير WIPK (Liu et al. 2003) وهذا لا يتوافق مع النتائج من الدراسات على الطماطم . حيث أن Le MPK 1,2 تتقاسم نفس الوظائف فى نسيج الورقة فإن تأثيرات جرعة الجين قد تكون هامة لتعديل انسياب الإشارات وكذلك الاستجابات الخلوية . العديد من MAPKs فى مختلف الأنواع النباتية تنشأ كتتابع لحوادث مضاعفة الجين الحديث . معظم هذه الجينات يعبر عنها وليس مفهوماً لماذا وجود البارالوجات

متكيف . التجارب الإضافية عن جين الإثارة التى تستهدف MAPKs خاطئة المنطق Paralogous سوف تساعد فى تقريز هذه الظاهرة .

تخليق JA يبدأ فى الكلوروبلاست مؤدياً إلى تخليق بادىء JA ١٢- أوكسو – فيتو دانيوسك آسيد والذى يمثل لاحقاً فى البيروكسى سومات إلى JA . من غير المعروف كيف أن إشارة السيستمين تتحول من غشاء البلازما – كينيز SR 160 المرتبط بالمستقبل غير السيتوسول لى الكلوروبلاست . معظم MAPKs النباتية عبارة عن بروتينات خلوية . لذلك فإن Le MPKs تقوم لاحقاً وإضافياً بنقل إشارة السيستمين لتنشيط عمليات التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك JA فى الكلوروبلاست .تعريف وسائط LeMPK ضرورى لفهم التنظيم الطبقى العالى لاستجابة الجرح / السيستمين فى خلايا الطماطم (Wasternack et al. 2006) . الوسائط المعروفة للـ Le MPK 1/2 التى تشابه AtMPK 6 هى الإنزيمات التى تكون الاثيلين خلوياً وهى - 1- aminocyclopropane 1- carboxylate synthase 2 and 6 (ACS2 and ACS6 ; Liu and Zhang 2004) . تحدث فسفرة AtACS 2/6 بواسطة AtMPK 6 مما يؤدى إلى زيادة نشاط ACS وتخليق الاثيلين استجابة لمحفز الفلاجللين البكتيرى . الاثيلين ضرورى كذلك كرسول ثانى فى الاستجابة للجروح (O' Donnell et al. 1996) وهو يخلق أو ينشأ استجابة للسيستمين فى خلايا L. peruvianum المزروعة (Felix and Boller , 1995) . فى نباتات الدخان فإن تخليق الاثيلين المحفز بالجروح ينظم جزئياً بواسطة SIPK (أورثولوج Le MPK 1/2) . من العقلانية القول أن تخليق JA ينظم بطريق غير مباشر بواسطة SIPK عبر الاثيلين .

بناء على التوازى الملحوظ بين استجابة الحيوان للالتهابات واستجابة الطماطم للجروح فقط اقترح أن MAPKs تنشط إنزيم فوسفوليبيز A2 الخلوى (cPLA2) والذى يبدأ تخليق JA من خلال إنتاج حمض لينولينيك من ليبيدات الغشاء . فى الخلايا الحيوانية فإن بعض عوامل النمو تنشط MAPKs والذى بدوره يقوم بتنشيط cPLA2 عبر الفسفرة (Lin et al. 1993) . لقد تم تعريف نشاط AcALA2 فى مستخلصات أوراق الطماطم استجابة للجروح والسيستمين . هذا ولو أن cPLA2 المستجيب بوجه خاصة للجروح لم تعرف بعد ولا توجد أدلة بأن الخطوات الأولى لتخليق JA تحدث فى الكلوروبلاست . هذا يصعب من تسوية التعارض مع تنشيط PLA2 الخلوية بواسطة MAPKs . من غير المعروف كذلك من نظم نمذجة أخرى أن MAPKs يمكن أن تنتقل من السيتوسول إلى العضيات .

هناك إشارة وسطية فى الاستجابة للجروح تتمثل فى أنواع الأكسجين المتفاعل (ROS) والتى يعتقد أنها تعمل ضد تيار JA وتنشأ بواسطة نشاط إنزيم NADPH

أكسيديز (Sagi et al. 2004) . حيث أن Le MPK 1-3 يعمل مع تيار JA فإنها قد تنظم كذلك تخليق ROS . من المعروف أن ROS عبارة عن منشطات MAPKs وقد تسبب تلف تاكسدى لمكونات التأشير التى تنظم MAPKs مثل البروتين فوسفاتيزيس . لكن فإن الميكانيكية الحقيقية لتنشيط MAPKs بواسطة ROS غير معروفة . استجابة للمثيرات الفطرية والتى توجه أو تدفع انفجار تاكسدى فإن MAPKs تنشط بشكل مستقل ROS . العكس صحيح حيث يوجد دليل للانفجار التاكسدى المستقل لـ MAPKs فى تداخلات العائل – الفطر الخاص – النبات . لقد أدى ذلك جميعا إلى الاقتراح بأنه على الأقل فى بعض مسارات التأشير فإن نشاط MAPKs وتوليد ROS تحفز بالتوازى وقد تعمل استقلالياً لكل منها مع الآخر . هذا ولو أن علاقة ROS المحفزة بالجروح ونشاط MAPKs تبقى بدون حل .

الإدراك الحسى للسيستمين بوسطة SR 160 تحفز الالكلة خارج الخلايا (EA) وتزامن فقد استقطاب الغشاء . استجابة الألكلة ليست قاصرة على السيستمين ولكنها تحفز بواسطة أى إشارة إجهاد . هذا ولو أنه من غير المعروف ما إذا كانت تتابعات EA لغرض نقل الإشارات . انعكاس تدرج البروتون بواسطة منشطات إنزيم البروتون ATP ase فى غشاء البلازما (PMA) تسوى تعبير الجين للسيستمين مما أدى إلى الاقتراح أن PMA ينظم درجة الحموضة خارج الخلايا استجابة للسيستمين . وأن EA عبارة عن حادثة إشارية ضرورية لاستجابة الجروح المحفزة بالسيستمين . لقد أقترح أن السيستمين يعطل نشاط PMA فى طريق يعتمد على الكالسيوم عبر الفسفرة خلال البروتين كينيز المعتمد على الكالسيوم . توكسين الفطر المسمى فاسيكوكين (FC) والذى ينشط دائماً PMA يسبب حامضية خارج الخلايا ويثبط استجابة الجروح المحفزة بالسيستمين . بالإضافة إلى ذلك فإن استخدام C أدى إلى تعبير جينات PR . لقد أدى ذلك بالباحثين Sehaller and Oecking (1999) إلى الاقتراح بأن نشاط PMA يعمل محول بقدر ما إذا كانت استجابة جينات الجروح لجينات – PR سوف يعبر عنها .

حيث أن معظم مثيرات الإجهاد والإشارات التى تحفز EA تنشط كذلك MAPKs – A1 , A2 تتعجب ما إذا كانت EA والتتابعات مطلوبة لتنشيط MAPK والعكس صحيح. لقد تم إجراء تحليل مقارن لتأثيرات pH ونشاط MAPKs استجابة للسيستمين والفيوسيكوكين . الفيوسيكوكين ينشط استجابة Le MPK1 ، ٢ ، ٣ المحفزة بالجروح / سيستيمين مما يوضح أن كلا الالكنة الخلوية والحامضية تؤدى إلى تنشيط نفس MAPKs هذا ولوأن حركية تنشيط MAPKs كانت مميزة مع السيستمين تسبب نشاط MAPKs انتقالى و Fe المطول . الاستخدام المتزامن للـ FC والسيستيمين لم يؤدى إلى تغيرات فورية فى الحموضة pH ولكن تؤدى إلى زيادة سريعة فى نشاط MAPKs . لاختبار ما

إذا كانت التغيرات فى pH خارج الخلايا يمكن أن لا تتزاوج من نشاط MAPKs حيث تم تبديل وسط النمو المجهز للخلايا المزروعة من المعلق لنباتات L.Peruvianum ببيئة طازجة . هذا يؤدى إلى حموضة قوية للبيئة دون توافق مع نشاط MAPKs . أظهرت هذه التجارب جميعاً أن التغيرات فى درجة الحموضة خارج الخلايا غير مطلوبة وغير كافية لنشاط MAPKs . لقد تم استبعاد الرأى بأن MAPKs ينظم EA . لذلك فإن نشاط MAPKs المحفز بالسستيمين و EA يعمل فى توازى وليس جزء من مسار التأشير الخطى الذى يحفز الاستجابة للجروح والتعبير الجينى (Higgins et al. 2007) .

السيستيمين مكون ضرورى فى استجابة الدفاع فى نباتات الطماطم ضد الحشرات الملتهمة للنباتات وهو مطلوب كذلك لتنظيم تخليق حمض الجسمونيك JA . حامض JA يعمل وظيفياً ليس كرسول ثانى داخل أو بين الخلايا فقط ولكنه يعمل كذلك كإشارة على مسافات طويلة عند حدوث الجروح . (Stramann 2003) . طفرات التخليق الحيوى لحامض JA والتأشير تتلف بشكل شديد فى المقاومة للحشرات آكلة النباتات . توافقاً مع دور MAPKs فى تنظيم تخليق PA أتضح أن الخمود المرافق للـ Le MPK1 و LeMPK2 يحدث مقاومة شديدة ضد M. Sexta فى نباتات 35 S : Prosystemin . لقد أتضح أن يرقات هذه الحشرة تحفز نشاط Le MPK1 , Le MPK2 , Le MPK3 .

استجابة Le MPKs المحفزة بالجروح / سيستيمين تلعب دوراً كذلك فى مقاومة نباتات الطماطم للحشرات الثاقبة الماصة مثل المنّ . ميكانيكيات التلف التى تحدث بواسطة مسبارات المنّ تختلف عن الحشرات القارضة فيما يتعلق بالمدى والطبيعة . مقاومة نباتات الطماطم للمنّ وبعض الذباب الأبيض وأنواع النيماتودا تعتمد على جين Mi – 1 . المقاومة التى تعال بجين Mi – 1 تتطلب حامض ساليسيليك (SA) وتؤدى إلى تنظيم فائق لجينات PR المحفزة بحامض SA . هذا يعتبر تذكرى لاستجابات دفاع الطماطم ضد الممرضات والتى تنظم بواسطة تيارات وسيول MAPKs . مشاركة MAPK (K) s فى مقاومة المنّ اختبرت بواسطة VIGS للـ Le MPK 1/2 و Le MKK2 , LeMPK3 . كل تكوينات VIGS الثلاثة تؤدى إلى زيادة معيشة المنّ على أوراق الطماطم مع التعبير بجين Mi – 1 وأوضحت أن المقاومة التى تعال بواسطة Mi – 1 للمنّ تنظم بواسطة شلال MAPKs هذه التقارير تمثل التحليل لفقد الوظيفة فقط مما يوضح أن وظيفة الكينزيسز كمكونات إشارية ضرورية فى استجابات دفاع النبات التى تحقق المقاومة ضد الحشرات آكلة النباتات .

كما ذكر سابقاً فإن MAPKs لتحت مجموعة A1 , A2 ما هى إلا كينيزيسز عالية التشويش تستجيب فى الغالب لأى تشويش فى البيئة الخلوية LeMPK1 و ٢ يعمل كنقاط تشعب لمنشط الإجهاد والإشارات مثل الحشرات التى تتغذى على النباتات والجروح

والسيستيمين والسيستيمنات الغنية بالهيدروكسى برولين ومثيرات الأوليجوسكريات والأشعة فوق البنفسجية B والإشعاع – ٢ (Holley et al. 2003) . استجابة أوراق الطماطم للإشعاع بالأشعة فوق البنفسجية – B (UV – B) مثير للاهتمام بالنظر لتخصصية والارتباط الداخلى لاستجابات الإجهاد المنظمة MAPK . بينما UV – B فقط يحفز بشدة تنشيط MAPK فإنه لا يحفز حامض ١٢ – أوكسو – فيتودانيويك وتكوين JA ولا تخليق مثبط بروتينيز . هذا ولو أن المنشط الطفيف للجرح إذا أعطى قبل التشعيع بأشعة UV-B يؤدى إلى تراكم جهازى تنشيطى لمثبطات البروتينيز . حيث أن تعبير جين مثبط البروتينيز يعتمد بشكل كبير على JA فإن هذه التجربة أوضحت أن تنشيط MAPKs بواسطة UV-B غير كافية للوصول إلى تخليق JA وتعبير جين الدفاع . تجارب مشابهة على نباتات الدخان فى الحقل أظهرت أن الجينات المستجيبة للأشعة UV-B أظهرت تداخل قوى مع الجينات التى تحفز بالحشرات . مع أخذ كل النتائج فى الاعتبار يبدو أن تنشيط نفس MAPKs بواسطة إشارات الإجهاد المختلفة والمحفز يرتبط بواسطة الاستجابات للإشارة الخاصة وتتداخل مع استجابات الإجهاد الأخرى . لا توجد أى ميكانيكية لتعريف وشرح هذه الظاهرة .

٤– دور MPK 4 فى الاستجابة للجروح

MAPKs لتحت المجاميع A1 , A2 ليست هى MAPKs الوحيدة التى تستجيب للجروح . فى الأرابيدوبسيس فإن At MPK 4 , B1 – MAPK تنشط بالجرح أو اللمس (حركة خفيفة للنباتات بالأيدى) وبعض الإجهادات اللا حيوية . طفرات MAPK يصعب تعريفها فى اختبارات التعريف القياسية . لذلك يكون من المثير للدهشة أن طفرة mPK4 تم تعريفها خاصة مع اعتبار أنه يوجد مشابهات At MPK 11 فى نفس تحت المجموعة و MPK5 , MPK12 فى اثنان إضافيان من تحت المجاميع لمجموعة B1 . عزل mPK4 أظهر كذلك أنه لا B1 – MAPKs ولا MAPKs لمجموعة – A ذات الاستجابة لعديد الإجهادات قادرة على تعويض فقد MPK 4 . طفرة mPK4 أكثر مقاومة للمرضات البكتيرية والفطرية البيضية بالمقارنة بالنباتات البرية . هذا يكون مصحوباً بتعبير تكوينى لجينات PR ومستويات SA المتزايدة التى تعتبر دليل عن المقاومة الجهازية المكتسبة المحفزة بالممرض (SAR) . SAR عبارة عن مقاومة عريضة المجال لمدى عريض من الممرضات الميكروبية . نباتات الطفرة mPK 4 كانت عدم الحساسية للمثيل جسمونات MeJA حتى فى النباتات المهندسة وراثياً التى تعبر بالجين Nah G- التى لا تراكم SA . لقد أظهر ذلك أن عدم الحساسية JA لا يتسبب بواسطة عبور بين SA – JA . طفرة mPK 4 أظهرت طرز فينولوجى قزمى ولكن تستجيب طبيعياً إلى معاملات إجهاد عديدة لا حيوية وللهورمونات النباتية . تأثير الطفرة كان

متخصصاً كما ثبت من التحليل الدقيق والتي وجدت عدد قليل من الجينات فقط والتي تأثرت تعبيراتها بالطفرة .

عدم حساسية نباتات mPK 4 لحمض الجسمونيك أدت إلى الاقتراح بأن وظائف MPK 4 يتمثل فى اتجاه تأشير JA لتخليق JA على عكس مجموعة A لـ MAPKs والتى تعمل ضد تيار تخليق JA . من المثير للاهتمام عدم حل لغز العلاقة بين MPK 4 و E3 ليجيز SCF CoII والذى يعمل فى اتجاه JA والذى ظهر حديثاً أنه يستهدف مخفضات تعبير الجين المحفز بحمض الجسمونيك للانهيار بواسطة البروتيسوم (Chini et al. 2007) . هذا ولو أن (2000) .Petersen et al لم يختبر ما إذا كانت طفرة الأرابيدوبسيس mPK 4 تظهر استجابة للجروح حيث تم دراسة ذلك فى نباتات الدخان بواسطة (Nt MPK (Gumi et al. 2005 الأورثولوج المزعوم فى الدخان يمكن أن ينشط انتقاليا بواسطة جرح الورقة وعلى نفس المنوال لمجموعة MAPKs . نباتات NtMPK 4 – RNAi أظهرت طرز فينولوجى يشابه عن قرب الطرز الفينولوجى mPK4 فى الأرابيدوبسيس مع تقزم وارتفاع مستويات SA وتعبير جينات PR استجابة لحامض السلسيليك SA . التعبير المحفز بالجروح للجين العلامة PI – II المستجيب للجروح انخفض بينما التعبير ADS لم يتأثر . لم يتم قياس مستويات JA فى نباتات NtMPK4 – KNAi ولم تختبر ما إذا كان التعبير PI – II يمكن أن يعاد تخزينه فى نباتات NtMPK4 – RNAi المعاملة بحامض الجسمونيك JA . من الأهمية بمكان الاستمرار فى مثل هذه الدراسات لمعرفة ما إذا كانت MPK4 مطلوبة للدفاعات ضد الحشرات آكلة النباتات وكيف تعمل MPK4 مع MAPKs الأخرى التى تستجيب للجروح كى تنسق أو تؤلف الاستجابة للجروح .

الرؤى والمنظور

من المدهش أننا لا نعلم إلا القليل عن الفسفرة العكسية استجابة لهجوم وتغذية الحشرات . الدراسات التى تم تناولها فى هذا الجزء تناولت دور MAPKs فى دفاعات النباتات . لكن هذا الاستنتاج مبنى فى معظمه على التجارب التى استخدمت الجروح الميكانيكية أو إشارات الجروح مثل السيستيمين . MAPKs المشترك فى الاستجابات للممرضات اكتسبت كثير من الاهتمام بما فيها دراسات الفقد المتعدد وكسب الوظيفة وتفاصيل عن التحليل البيوكيميائى . لقد ذكر كاتب هذا الجزء أن معلوماته تشير إلى وجود دراستان فقط عن فقد وظيفة MAPKs والتى تتضمن الحشرات بشكل مباشر . فى المستقبل يكون من الأهمية دراسة دور كل MAPKs بالتفصيل عن طريق تعريض النباتات المعدلة وراثياً للحشرات آكلة النباتات ومن الأهمية كذلك يوضح لاحقاً ما إذا كانت بعض وظائف MAPKs تشترك الدفاعات ضد كل أو ضد عدد محدود فقط من أنواع

الحشرات . دراسات فقد الوظيفة فيما يتعلق بالكينيزيس MAPKs فى الطماطم أظهرت أن Le MPK1 ، ٢ ، ٣ هامة للمقاومة التى تعال بالسيستيمين ليرقات الحشرة القارضة M.Sexta والمقاومة المعالة بواسطة Mi – 1 للمنّ وطائفتان فقط من المتغذيات التى تسبب أنواع مختلفة كثيراً من الضرر وتحفز استجابات خلوية مميزة . من المعروف أن بعض الحشرات تحفز الدفاعات المباشرة وغير المباشرة عبر اقتران الحمض الدهنى – الحمض الأمينى (FACs) الموجود فى إفرازات الفم أو القيء (Alborn et al. 1997) من المثير للدهشة أن تجد أن FAC's تستخدم نفس مكونات التأشير كجروح ميكانيكية .

MAPKs المستجيبة للإجهاد لمجاميع A , B1 يبدو أنها تمثل نقاط التنوع الكبرى للعديد من إشارات الإجهاد . فقد الوظيفة لهذه MAPKs لها تتابعات كبرى للدفاعات والحماية ضد الإجهاد . إخماد SIPK , WIPK وأورثولوجاتها فى الطماطم جعلت النباتات ليست حساسة فقط للممرضات ولكن حساسة كذلك للحشرات القارضة والمنّ والإجهاد اللا حيوى (Del Pozo et al. 2004) . من جهة أخرى فإن دراسات كسب الوظيفة أظهرت وظيفة أكثر تخصصا مثل ما يحدث فى تحفيز الاستجابة فائق الحساسية . حيث أن مكونات التأشير التى تحفز بالممرض والجروح تتلاقى عبوريا فإن هناك ميل بأن التعبير الفائق لبعض MAPKs النشطة لن تزيد المقاومة للحشرات . ولو أن هذا لم يختبر بشكل مباشر حتى الآن .

استجابات الدفاع للجروح أو آكلات النباتات والاستجابات لمسببات الأمراض متميزة بشكل واضح ولكن كلاهما يعال بواسطة نفس MAPKs . لقد أدى ذلك إلى بروز تساؤل أساسى . كيف أن الإشارات تنتج بدقة وتخصصية فائق عبر هذه الكينيزيس المشوشة ؟ بالإضافة إلى ذلك هناك تساؤل آخر ألا وهو : ما هى الميكانيكيات الجزيئية التى تؤدى إلى استجابات خلوية من الإشارات الخاصة ؟ هذه من أهم المشاكل مثار الجدل فى نقل ونسخ الإشارات فى الحيوانات والخميرة (Sabbagh et al. 2001) . التفسيرات تبنى على أساس مفهوم شبكة الإشارات . فى هذه الشبكة فإن مكونات التأشير الخاصة (فقط التقاء nodes) ترتبط داخلياً بشكل كبير وتستجيب لإشارات داخلة متعددة وترحل الإشارة إلى نقط التقاء متفاوتة مع التيار . MAPKs لمجموعة -A تمثل فقط التقاء بؤرية تستجيب لعدد كبير من الإشارات الداخلة . الميكانيكيات المرتدة الموجبة والسالبة فيما بين نقط الالتقاء تحول سلوك الإشارات وتكبير الإشارة تزيد من تعقيد الشبكة . هذا التعبير يمكن من الاستجابات المرنة وتكامل الإشارات المتعددة وهذا يمثل أهمية فى ناحية الخلفية الطبيعية والتى فيها تجابه النباتات تحديثات متتابعة أو فى تزامن مع مسببات الإجهاد المتعددة . لقد أقترحت العديد من الحلول لمشكلة دقة التأشير بناء على العمل نظم الخميرة أو الحيوانات . هناك بعض الأدلة التى تشير إلى إمكانية حدوث نفس الميكانيكيات فى النباتات ولو أنها لم تفرز أو تثبت جيداً بوجه عام .

MAPKs تنشط سواء بطريق مطولة أو انتقالى . بالنسبة MAPKs الخاصة فى الثدييات فقد أتضح أن حركيات تنشيط الكينييز تحدد الاستجابة الخلوية . عامل نمو العصب يحفز النشاط الممتد لـ MAPKs للثدييات MAPKs ERK I , ERK2 وتفريق خلايا PC 12 فى الخلايا المشابهة لجسم العصب . على العكس فإن عامل نمو البشرة يحفز التنشيط الانتقالى ERK 1/2 وتكبير خلايا PC12 ولا يحفز التمييز أو التفريق . حركيات التنشيط المختلفة تنشأ خلال تداخل التفريق لسمتقبلات عامل النمو مع بروتينات التداخل والذى يقوم بدوره بتجميع معقدات تأشير ثابتة أو قصيرة العمر (Kao et al. 2001) .

MAPKs النباتية المستجيبة للضغوط أو الإجهادات معروف أنها تحدث حركيات تنشيط مختلفة استجابة للمثيرات والمنبهات المختلفة . لقد أقترح أن الإشارات المرتبطة بالجروح تؤدى إلى إشارات انتقالية ومرتبطة بالممرض مما أدى إلى تنشيط MAPK مطولة (Ren et al. 2002) . حركيات التنشيط يبدو أنها وظيفة الإشارة المنشطة ، طبيعة التداخل بين مادة الربط والمستقبل ونشاط النسخ والنقل اللاحق لـ MAPKs والتنظيمات السالبة مثل البروتين فوسفاتيزيس . بالإضافة إلى ذلك فإن النصوص الراجعة السالبة والموجبة تؤثر على الحركيات المنشطة . لقد أتضح أن شلالات MAPKs المحفزة بالسيستيمين تدخل فى حالة استقطاب بعد التنشيط الابتدائى مما يوضح وجود منظمات انتقالية سالبة للشلال (Bogre et al. 1997) . هذا السلوك يوضح أن النشاط المؤازر وتحفيز MAPKs يمنع بكفاءة على الأقل استجابة للإشارات المرتبطة بالجروح . ولوأنه لم تظهر أية ميكانيكية فى النباتات تشرح كيف أن حركيات تنشيط MAPK تستقرأ بواسطة شبكة التأشير كى تؤدى إلى استجابات خلوية خاصة .

التداخل مع البروتينات الأخرى تغير أو تعول من نشاط MAPKs أو تحدد تخصصية التأشير . هناك أمثلة من الحيوانات والخميرة عبارة عن بروتينات عامة والتى تتداخل مع MAPKs . تيار MAPK يجمع بواسطة شد أو تطويل MAPK خاصة إلى البروتين المشدود والتى تتداخل كذلك مع MAPKKs و MAPKKKs . لقد وضع ذلك التأشير بدقة عن طريق استبعاد MAPKs المنافسة . حيث أن بروتينات الخميرة والحيوانات لا توجد فى النباتات لا يعرف ما إذا كانت نفس الميكانيكيات تستخدم فى النباتات لدمج مكونات الشلال . هذا ولو أن AMAPKKK من البرسيم أتضح أنه يتداخل مع MAPK مما أدى إلى الاقتراح بأن MAPKKK نفسه قد يعمل كشدادة .

الطريق الآخر لخلق استجابات خاصة عبر شبكة الإشارات ما يتمثل فى التنشيط التفريقى وعدم تنشيط نقط الاتصال المتعددة التى تستجيب لإشارات داخلية متعددة . كمثال MAPKs من المجموعة -A والاثيلين وأنواع الأكسجين النشيطة المتفاعلة وأيون

الكالسيوم Ca+2 وتدفقات البروتون المشتركة فى معظم وأى مسار تأشير من الإجهـاد . كل إشارة داخلة منفردة لها جهد لتنشيط كل هذه الإشارات الوسيطة وناقلات الإشارة فـي أى مسار داخل ممر خاص عبر التداخلات الخاصة مع المستقبلات التى تخلق نظام خاص من نشاط الشبكة . المدخل المعال بالمستقبل – البصمة الإشارية الخاصــة يـنعكس فـي حركيات واتساع نشاط أماكن الالتقاء الفردية . هذا السيناريو يشرح عدم توافق تجـارب مكسب وفقد وظيفة MAPK . كلا الاقترابات تشوش وبشدة شبكة الإشــارات بواسـطة التنشيط الفائق أو خلل نقطة الالتقاء المركزية . لذلك فإن اقترابات فقد ومكسب الوظيفة قد يحقق معلوماتية فى بعض الأحيان بالنظر إلى مرتبة نقطة الاتصال داخل شبكة الإشارات الخلوية عما هو الحال مع وظيفة نقاط الاتصال الفردية استجابة لإشارة داخلة خاصة . من الضرورى فى المستقبل لاكتمال هذه الدراسات مع تحليلات تفصيلية بيوكيميائيــة والتـي تتناول حركيات التداخلات بين نقاط الاتصالات الإشارية . التقدم الحديث فـي الفوسـفو بروتيوميك (Phosphoproteomics (Peck 2000 والطرق المستخدمة فـي دراسـة التداخلات بين البروتين – بروتين ستظهر ديناميكية التحويرات ما بعد الترجمـة وكـذلك تجمع معقد البروتين وعدم التجمع فى شبكة الإشارات استجابة لمختلف الإشارات الداخلـة بما فيها آكلات النباتات . هذا يتضمن كذلك توصيف المعايير الإنزيمية الغيـر معروفـة بشكل واضح مع MAPKs النباتية مع قليل من الاستثناءات . لقد استخدمت هذه البيانات لعمل نموذج استجابة شلالات MAPK الحيوانية التى أظهرت أن شلالات MAPK تعمل على التحويل أكثر منها فى تكبير الإشارة .

التقسيم لأجزاء وتعبير الأنسجة الخاص قد يساهم لاحقاً وإضـافيا فـي تخصـصية الإشارات . فى الوقت الحالى لم يوضح ذلـك مـع معظـم MAPKs ولـو أن بعـض MAPKs معروف عنها أنها تغير فى العديد من أنواع المختلفة الأخـرى (Ren et al. 2006) . بمجرد حدوث التنشيط فإن بعض MAPKs تنتقل من السيتوسول إلى الأنوية لتنشيط النسخ . البعض الآخر يظل موجوداً بشكل دائم فى الأنوية أو ينتقل من الأنوية إلى السيتوسول . MAPKs يمثل لإظهار تخصصية عريضة فى الوسائط ولكن تداخل أكثـر تخصصية من وسط MAPK قد يتحدد بواسطة تيسر الوسـيط الخـاص فـي الأجـزاء المقسمة.

References

Ahlfors R, Macioszek V , Rudd J , Brosche M , Schlichiting R , Scheel D , Kangasjarvi J (2004) Stress hormone – independent ctivation and nuclear translocation of mitogen – activated protein kinases in Arabidopsis thaliana during exposure . Plant J 40 : 512 – 522

Birkenmeier GF , Ryan CA (1998) Wound signaling in tomato plants . Evidence that ABA is not a primary signal for defense gene activation . plant physiol 117 : 687 – 693

Cazale AC , Droillard MJ , Wilson C, Heberle – Bors E, Barbier – Brygoo H , Lauriere C (1999) MAP kinase activation by hypossmotic tobacco cell suspensions ; towards the oxidative burst response ? plant J 19 : 297 – 307

Doares SH , Narvaez – Vasquez J , Conconi A, Ryan CA (1995) Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid . plant physiol 108 : 1741 – 1746

Ekengren SK, Liu Y , Schiff M , Dinesh – Kumar SP , Martin GB (2003) Two MAPK cascades , NPRl , and TGA transcription factors play role in pto – mediated disease resistance in tomato . plant J 36 : 905 – 917

Felton GW , Korth Korth KL , Bi JL , Wesley SV , Huhman DV , Mathews MC , Murphy JB , Lamb C, Dixon RA (1999) Inverse relationship between systemic resistance of plants to microorganisms and to insect herbivory . Curr Biol 9 : 317 – 320

Gomi K , Ogawa D , Katou S , Katou S, Kamada H , Nakajima N , Saji H , Soyano T , Sasabe M , Machida Y , Mitsuhara I , Ohashi Y , Seo S (2005) A Mitogen – activated protein kinase NMPK 4 activated by SIPKK is required for jasmonic acid signaling and involved in ozone tolerance via stomatal movement in tobacco , plant Cell physiol 46 : 1902 – 1914

Hirt H (1999) Transcriptional upregulation of signaling pathways ; more complex than anticipated ? Trends plant Sci 4 : 7 – 8

Ichimura K , Mizoguchi T , Yoshida R, Yuasa T , Shinozaki K (2000) Various abiotic streses rapidly activate Arabidopsis MAP kinases ATMPK 4 and ATMPK6 . plant J 24 : 655 – 666

Kim CY , Liu Y , Thorne ET , Yang H , Fukushiges H , Gassmann W, Hildebrand D , Sharp RE , Zhang S (2003) Activation of a stress – responsive mitogen – activated protein kinase cascade induces the biosynthesis of ethylene in plants . plants cell 15 : 2707 – 2718

Li C , Williams MM , Loh Y –T , Lee GI , Howe GA (2002a) Resistance of cultivated tomato to cell content – feeding herbivores is regulated by the octadecanoid – signaling pathway . plant physiol 130 : 496 – 503

Lin Y, Jin H , Yang KY , Kim CY , Kim CY , Baker B . Zhange S (2003) Interacion between two mitogenactivated protein kinases during tobacco defense signaling . Plant J 34 : 149 – 160

Malone M (1996) Rapid , Long – distance signal transmission in higer plants In : Callow JA (ed) Advances in Botanical Research . Academic Press , San Diego , pp 163 – 228

Nakagami H , Kiegerl S, Hirt H (2004) OMTKI , a novel MAPKKK , chamels oxidative stress signaling through direct MAPK interaction . J Biol Chem 279 : 26959 – 26966

O' Donnell PJ , Calvert C , Atzom R , Wasternack C , Leyser HMO , Bowles DJ (1996) Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants . Science 274 : 1914 – 1917

Petersen M , Brodersen P, Naested H , Andreasso E , Lindhart U , Johansen B , Nielsen HB , Lacy M , Austin MJ , Parker JE , Ehama SB , Klessig DF , Martienssen R , Mattsson O , Jensen AB , Mundy J (2000) Arabidopsis MAP kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance . Cell 103 : 1111 – 1120

Reymond P , Weber H , Damond M , Farmer EE (2000) Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in Arabidopsis . plant cell 12 : 707 – 720

Seo S , Okamoto M , Seto H , Ishizuka K, Sano H , Ohashi Y (1995) Tobacco MAP kinase ; a possible mediator in wound signal transduction pathways , Science 270 : 1988 – 1992

Stratmann JW , Ryan CA (1997) Myelin basic protein kinase activity in tomato leaves is induced systemically by wounding and increases in response to systemin and oligosaccharide elicitors . proc Natl Acad Sci USA 94 : 11085 – 11089

Thompson GA , Goggin FL (2006) Transcriptomics and functional genomics of plant defence in duction by phloem – feeding insects , J Exp Bot 57 : 755 – 766

Wildon DC , Thain JF , Minchin PEH , Gubb JR , Reilly AJ , Skipper YD , Doherty HM , O'Donell P?J , Bowles DJ (1992) Electrical signaling and systemic proteinase inhibitor induction in the wounded plant . Nature 360 : 62 – 65

Xu Q , Fu HH , Gupla R , Luan S (1998) Molecular characterization of a tyrosine – specific protein phosphatase encoded by a stress – responsive gene in Arabidopsis . plant Cell 10 : 849 – 857

Yalamanchili RD , Stratmann J (2002) Ultraviolet – B activates components of the systemin signaling pathway in Lycopersicon peruvianum suspension – culured cells , J Biol Chem 277 : 28424 – 28430

Zhang S , Klessig DF (1997) Salicylic acid activates a 48 – KD MAP kinase in tobacco . plant cell 9 : 809 – 824

ثالثاً : التخليق الحيوى للجسمونات والإشارات لتحفيز دفاع النبات ضد آكلات النباتات

Jasmonate Biosynthesis and Signaling for Induced plant Defense against Herbivory

Andreas Schaller and Annick Stintzi

الجاسمونات عبارة عن قسم متنامى من جزيئات التأشير وهورمونات النبات والتى تشتق من أحماض دهنية عديدة غير مشبعة عبر مسار أوكتاديكا نويد وتتميز بوجود تركيب حلقى خماسى الكربون . حتى وقت قريب كان يعتقد أن حمض الجسمونيك هو الناتج النهائى لهذا المسار وهو هورمون حيوى نشط . لقد أصبح من الواضح أن النشاط الحيوى ليس محدداً على حمض الجسمونيك ولكنه يمتد وحتى يختلف فى العديد من نواتج التمثيل والمقترنات وكذلك فى بادئات التخليق الحيوى . على غرار الهورمونات النباتية الأخرى فإن الجسمونات يظهر مدى عريض من الأنشطة الفسيولوجية تتراوح من إنبات البذور وحتى تطور التكاثر وجميع المسالك إلى الشيخوخة . الجسمونات تلعب أدوراً هامة كجزيئات إشارية فى دفاع النبات خاصة الدفاع ضد الحشرات آكلات النباتات والممرضات القاتلة . فى هذا المقام سوف نتناول باختصار كل خطوة فى مسار أوكتاديكانويد مشيرين إلى أى الخطوات وثيقة الصلة بتنظيم التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك والرؤى المتحصل عليها حديثاً فيما يتعلق بالتركيب البللورى لاثنان من إنزيمات هذا المسار . بالنظر إلى إشارات الجسمونات سوف نركز على دورها كجزيئات إشارية فى استجابة الدفاع الجهازية ضد الحشرات آكلة النباتات وتنشيط التعبير عن جينات الدفاع التى تعتمد على الجسمونات .

A. Stintzi

University of Hohenheim , Institute of plant physiology and Biotechnology , D – 70599 Stuttgart , Germany

e-mail : stintzi@uni-hohenheim.de

١- مقدمة

منذ تعريف المثيل جسمونات (Me JA) كناتج تمثيل ثانوى فى الزيوت الضرورية للجسمين عام ١٩٦٢ (Demole et al . 1962) تم اكتشاف العديد من المركبات المرتبطة فى مدى عريض من النباتات ويشار إليها تجميعياً بالجسمونات . الجسمونات

تتقاسم أصولها فى التخليق الحيوى من الأحماض الدهنية الأوكسجينية عديدة عدم التشبع والحلقة الخماسية الإحلالية كعنصر تركيبى شائع . فى بداية الثمانينيات فإن حدوثها العريض خلال المملكة النباتية وتثبيطها للنمو والأنشطة الخاصة بتحفيز الشيخوخة تم تأكيده. أول الدلائل عن دور الجسمونات فى تنظيم التعبير الجينى تحصل عليها بواسطة Parthier ومعاونوه الذين لاحظوا تراكم البروتينات المحفزة للجسمونات (JIPs) فى أوراق الشعير التى شاخت . العمل الرائد الذى قام به Farmer and Ryan أظهر لاحقاً أن Me JA وحمض الجسمونيك (JA) يحفز تراكم مثبطات البروتينيز كوسيلة دفاع مباشرة ضد الحشرات آكلات النباتات . بعد وقت قصير تأكد أن الجسمونات تعول تراكم المحفز المثير للألكسينات النباتية المضادة للميكروبات فى المزارع الخلوية وتحفيز بروتينات التخزين الخضرية فى فول الصويا والأرابيدوبسيس . هذه المخرجات نشطت الاهتمام بالجسمونات كقسم جديد لجزيئات التأشير فى دفاع النبات ضد الحشرات ومسببات الأمراض .

فى السنوات اللاحقة تم توصيف عدد ضخم من الطفرات والتى تفسد فى أى من تخليق الجسمونات أو الاستجابة وقد تم التأكيد على وظيفتها كمنظمات دفاع نباتية . الطفرات التى تضار فى أداء وتأشير الجسمونات تتضمن طفرات Coil و Jin 1 و Jai 3 فى الأرابيدوبسيس (Feys et al. 1994) و Coil فى الدخان و Jai 1 فى الطماطم وقد فشلت فى تحقيق استجابات دفاعية مناسبة . كذلك وجد أنه مع تحفيز استجابات الدفاع تلك الطفرات ناقصة بادئات الحمض الدهنى عديد التشبع للجسمونات (طفرات Fad 3 Fad 7 و Fad 8 و Spo 21 Fad 7 فى الأرابيدوبسيس والطماطم والطفرات التى تأثرت فى مسار أوكتاديكانويد للتخليق الحيوى للجسمونات مثل Ded 1 , aas , ecx 1/5 و Jar 1 فى الأرابيدوبسيس و Def 1 فى الطماطم و Jard فى الدخان .

بالإضافة لكونها منظمات دفاعية فإن توصيف التخليق الحيوى وأداء الطفرات تم وضعه بالجسمونات كهورمونات نباتية فى تطور تكاثر النبات . العديد من طفرات الأرابيدوبسيس تعقم الذكور بسبب القصور والضرر فى نضج البذور وحبوب اللقاح (Sanders et al. 2002) بينما القصور فى مكافحة الأبوين لنضج البذور يبدو أنها تسبب Jai 1 فى الطماطم (Li et al. 2004) . من العمليات الأخرى للتطور المنظم بالجسمونات تلك التى تشمل نمو الجذور ، تطور الأشواك الغدية ، تكوين الدرنات ، تميز وتفرق Laticifer وإنبات البذور وتحصيص الكربون / النتروجين والشيخوخة .

من الدراسات المرجعية التى نشرت حديثاً عن التخليق الحيوى للجسمونات ونشاطها خاصة ما يتعلق بالإسهام فى تنظيم استجابات الدفاع فى النبات :

(Blee 2002 ; Liechti and Farmer 2002 ; Halitschke and Baldwin 2004 ; Howe 2004 ; Pozo et al . 2004 ; Schaller et al . 2004 ; Browse 2005 ; Lorenzo and Solano 2005 ; Schilmiller and Howe 2005 ; Delker et al . 2006 ; Wasternack 2006 ; Cheong and Choi 2007 ; Wasternack 2007) , and We .

٢- التخليق الحيوى للجسمونات

التخليق الحيوى للجسمونات والعديد من الأوكسى ليبيتات الأخرى تبدأ بواسطة إنزيمات ليبوكسى جينيزيس (LOX s) والتى تساعد وتحفز الديوكسنة الفراغية الاختيارية والمكانية للأحماض الدهنية غير المشبعة المتعددة . حامض لينوليك (١٨ : ٢) وحمض اللينولينيك (١٨ : ٣) تتأكسد بواسطة LOX s خاصة عند C9 وحتى C13 لإنتاج (95) - (135) - هيدروبيروكسى - أوكتاديكانويد (تراى) والتى تغذى فى سبعة مسارات بديلة على الأقل تؤدى إلى تكوين أنواع كبيرة من الأوكسى ليبنات (Blee 2002) . الخطوة الأولى فى المسارين المتوازين للتخليق الحيوى لحمض الجسمونيك (الشكل ٩-٣) . مثل مسار أوكتاديكانويك من ١٨ : ٣ ومسار هكساديكانوئيك من ١٦ : ٣ وهى تجرى بواسطة اللين أوكسيد سينسيز (AOS) وهو سيتوكروم P450 غير عادى والذى يستخدم وسيط هيدروبيروكسيد كمصدر لخفض التكافؤات وكمانح للأكسجين ومن ثم يكون استقلالياً عن الأكسجين الجزيئى و NAD (p) H , AOS يحفز فقد ماء -13(S) hydroperoxy – octadecatrienoic acid (13 – HPOT) لتكوين اللين أكسيد غير ثابت 12 , 13 (S) – epoxy – octadecatirienoic acid (12 , 13 – EOT) فى الوسط المائى فإن 12 , 13 Eot تتحلل بسرعة إلى @ و Y - كيتولات أو تتجه نحو تكوين الحلقية لتكوين ٢- أوكسيد - فيتودانيويك آسيد (OPDA) . على عكس الحلقية اللحظية التى تؤدى إلى تكوين أزواج المشابهات الضوئية النقية 135 , 95 . قصر نصف فترة الحياة حامض 12 , 13 – EOT فى الوسط المائى (26 s at D^{oC} ,PH6.7) والنقاوة الضوئية للـ OPDA مما أدى إلى الاقتراح بحدوث أزواج محكم لتفاعلات AOC , AOS فى الداخل . هذا ولو أن التلامس الطبيعى للـ AOC , AOS فى معقد الإنزيم لا يبدو مطلوباً للسيطرة الفراغية الكيميائية لتفاعل الحلقية (Zerbe et al. 2007).

OPDA – 135 , 95 فقط تمثل واحد من أربعة مشابهات فراغية ممكنة وهى بادىء لحمض الجسمونيك JA النشط بيولوجيا . AOC يمثل أهمية كبيرة لعمل التركيب المقارن Enantiomeric لحلقة سيكلوبنتينون . التركيب البللورى لمركب AOC2 فى الأرابيدوبسيس أزاح العتمة عن كيف أن الإنزيم يتحكم فراغيا وكيميائيا عن تفاعل الحلقية (Hofmann et al. 2006) . إذا أخذ فى الاعتبار حقيقة أن الحلقية تحدث تلقائياً . لحظياً

فى المحلول المائى كما أن AOC2 لا تحتاج إلى كثير من المحفزات فيما يتعلق بخفض حاجز طاقة النشاط . فى الحقيقة فإن ارتباط الوسيط أو الحالة الانتقالية لا يتضمن أى تقنية لتحفيز اللياقة . بيئة البروتين الكاره للماء والقليل جداً من التداخلات الأيونية مع بقايا الجلوتامات (Glu 23) وجزىء الماء المرتبط بإحكام تؤكد الارتباط وتصحح وضع الوسيط EOT 13 , 12 . القيود الإستراتيجية التى ترتبت بواسطة بيئة البروتين تدفع وتعضد التغيرات المتطابقة الضرورية لذيل ايدروكربون الوسيط مما يؤدى إلى نشاط فراغى مطلق للـ AOC2 المعال كمعاكس لتفاعل الحلقية الكيميائية .

الدور السالب لمركب AOC2 فى التخليق الفراغى الاختيارى لمركب 95135 - OPDA ما هو إلا تذكرى للبروتينات القابلة للتوجيه والطريق الذى فيه تقوم بتحفيز التكوين الفراغى الاختيارى للارتباطات . تكوين الروابط يتضمن ازدواج تأكسدى متحكم فيه فراغياً كيميائياً لاثنين من الفينولات مثل تكوين (+) بينوريسينوى من جزئيان من كحول كونيفريل (Dauin et al. 1997) . فى غياب البروتينات الموجهة والرنين - وسائط الفينوكسى الأساسية المثبتة تزدوج عشوائياً لتكون مخلوط من الارتباطات الراسيمية. البروتينات الموجهة التى تعانى من نقص مركز التحفيز يعتقد أنها تربط وتوجه الوسائط الأساسية الحرة بما يسمح بحدوث الازدواج الفراغى الاختيارى (Devin et al. 1997) .

من المثير للاهتمام أن كلا البروتينات الموجهة و AOC2 عبارة عن أفراد متباعدة لعائلة الليبوكالين (Charron et al. 2005) . الليبوكالينات عبارة عن بروتينات أسطوانية - بيتا تحدث فجوة مركزية كارهة للذوبان فى الماء لارتباط جزيئات صغيرة محبة للدهون مثل الاستيرويدات والفورمونات ومواد الرائحة والريتينويدز . فى الحقيقة فإن معظم

الليبوكالينات لا تعمل كإنزيمات ولكن كروابط بروتينية فى الشم ونقل الفورمون ونقل الريتينول وتلوين مخفى فى اللا فقاريات . على نفس المنوال فإن البروتينات الموجهة و AOC2 تعمل كبروتينات رابطة للبادئات المحبة للدهون غير الثانية (شقوق الفينوكسى وأكاسيد الأللين على التوالى) لإحداث السيطرة الفراغية الكيميائية فى تخليق الروابط و OPDA .

شكل (٩-٣) : التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك . الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع (3 : 16 & 3 : 18) ما هى إلا بادئات للتخليق الحيوى لحمض الجسمونيك عبر مسارات الأوكتا والهكساديكانويد على التوالى . الخطوات الثلاثة الأولى تقع فى البلاستيدات وتؤدى إلى تكوين ١٢ – أوكسوفيتو ديكانويك (OPDA) والديز . ١٢– أوكسوفيتودانويك آسيد du) OPDA) . الخطوات المتتابعة تتضمن اختزال OPDA (duOPDA) إلى (OPC 6 : 0) OPC 68 : 0 متبوعة بثلاثة (أو اثنين) من حلقات الأكسدة – بيتا مما يؤدى إلى إنتاج حمض الجسمونيك فى البيروكسيسومات . الأسهم والأسهم المقطعة تستخدم للتفرقة بين التفاعلات الموصفة جيداً وتلك الخطوات التى مازالت فى نطاق الفرضية والتى لها تبقى الإنزيمات المناظرة فى حاجة للتعريف .

تكوين OPDA – 135 , 95 كأول فرد فى عائلة الجسمونات ذات النشاط الإشارى أدى إلى الاستنتاج بأن الجزء الواقع فى مسار البلاستيد للأوكتا (هكسا) ديكانويد . لا يعرف إلا القليل عن كيف ينتقل OPDA (و dn OPDA) من البلاستيدات إلى البيروكسيسومات حيث تحدث الخطوات النهائية للتخليق الحيوى لحامض الجسمونيك . حديثا اتضح أن ناقل ABC والمعروف COMATOSE (CTS تعرف كذلك PXA1 أو PED3 يشترك فى هذه العملية) . CTS يحفز الاستيراد المعتمد على ATP للأحماض الدهنية فى بيروكسسيمات كوسائط للأكسدة – بيتا . الطفرة Cts تخفض مستويات JA وهى تتلف فى تراكم JA المحفز بالجروح وتعبر عن جين VSP 1 المعتمد على JA عند مستوى منخفض مما أدى إلى الاقتراح بأن CTS ينقل الوسائط لتخليق JA فى البيروكسيسيمات وفى الغالب OPDA (du) أو استرات COA المناظرة . هذا ولو أن مسارات أخرى لاستيراد OPDA (dn) يجب أن توجد كما أتضح بواسطة المستويات الباقية لحمض الجسمونيك JA ونقص أعراض نقص JA (مثل تعقيم الذكور) فى طفرة Cts . لقد اقترحت مسارات إضافية لاستيراد الحمض الدهنى فى البيروكسسيمات بواسطة الانتشار أو بواسطة ميكانيكية أخرى غير معروفة بواسطة) Fulde et al. 2004) . بسبب درجة الحموضة العالية فى البيروكسسيمات بالمقارنة

بالسيتوبلازم والأحماض الضعيفة تنبأ باصطيادها فى البيروكسسيمات كأنيونات وهذا قد يحدث مع بعض استيراد OPDA (du) (Theodoulou et al. 2005) .

إذا حدث اختزال داخل البيروكسيسيمات لمركب OPDA – 135 , 35 بواسطة إنزيم ١٢- أوكسوفيتودايونات ريدكتيز (OPR 3) لإنتاج ٣- أوكسو – ٢ (٢" (Z) – بنتينيل) – سيكلوبنتان – s – أوكتانويك آسيد (OPC – 8 : 0) , du OPDA يختزل لمشتق حمض هكسانويك المقابل (OPC – 6 : 0) (الشكل ٩-٣) . الخصائص الإشارية للجسمونات تحمل حلقة سيكلوبنتينون (OPDA , du OPDA) وهى تتميز بوضوح من حامض الجسمونيك JA ومشتقاته التى تتميز بواسطة حلقة السيكلوبنتانون المختزلة (Taki et al. 2005) . OPR3 قد يكون هاماً بوجه خاص لتنظيم المستويات النسبية لهذين القسمين من جزيئات الإشارات .

حتى OPR3 تنتمى لعائلة صغيرة من أوكسي دوريدكتازيس التى تعتمد على الفلافين (على الأقل ثلاثة فى الطماطم ، ستة جينات فى الأرابيدوبسيس وستة فى البسلة وثمانية فى الذرة وعشرة فى الأرز) وهى تعمل وظيفياً بشكل متميز كما تأكد من دليل أعراض نقص JA (تعقيم الذكور) لطفرة OPR 3 يفقد الوظيفة فى الأرابيدوبسيس . الدليل الوراثى يتوافق مع بيانات النواحى البيوكيميائية والتركيبية والتى أدت إلى الاقتراح بأن OPRs تحفز اختزال الكربونيل غير المشبعة @ و B (الانيونات المقترنة) بينما OPR3 فقط وأركولوج الأرز Os OPR 7 قادرة على اختزال الاقران 135 , 95 لمركب OPDA لذلك فإن هذه هى OPRs فقط التى تساهم فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك JA . صور مشابهات OPR 1 من الأرابيدويسيس والطماطم والأرز من جهة أخرى أتضح أنها تختزل العديد من الانيونات المقترنة بما OPDA – 13R , 9R ولكنها لا تقبل OPDA – 135 , 95 البادىء للنشاط الحيوى لحمض الجسمونيك (Strossner et al . 2002) .

حديثاً تم تحليل التركيب البللورى وتحصل على رؤى عن ميكانيكات اختزال الوسيط والاختلافات الواضحة فى التخصصية الفراغية بين OPR1 , OPR3 (Fox et al. 2005) . توافقا مع ميكانيكية التفاعل المقترحة المرتبطة بالإنزيم الأصغر القديم من الخميرة فإن شق الكربونيل للوسيط يكون روابط ايدروجينية مع اثنين من بقايا الهستيدين (فى طماطم OPR1 – His 187 and His 197) والتى تؤدى إلى استقطاب الرابطة الزوجة @ و B . بالتتابع فإن نقل الهجين من العامل المرافق الفلافين المختزل إلى الوسيط CB يحدث بسهولة متبوعاً بإدخال البروتونات للوسيط C& بواسطة بقايا التيروسين . مقارنة تراكيب OPR1 و OPR3 أظهر فجوة لموقع نشط أكثر انفتاحاً فى ORR3 وهذا يفسر تخصصية الأكثر مرونة بما يسمح باختزال كلا مشابهات , 95)

(135 و (9R , 13R) للـ OPDA . هناك اثنان من البقايا فى OPR1 وهما Tyr 78 و Tyr246 ويبدو أنها تعمل كبوابات وتقرب الموقع النشط وتسد دخول 95,135 – OPDA (Breithaupt et al. 2001) .

تقصير السلاسل الجانبية لحامض هكسانويك وحامض أوكتانويك فى OPC – 6 : 0 و OPC – 8 : 0 لإنتاج حمض الجسمونيك JA تتضمن اثنين أو ثلاثة دورات الأكسدة بيتا على التوالى . قبل الدخول فى دورة الأكسدة – بيتا فإن الشق الكربوكسيلى تحتاج للتنشيط كاستر COA . التعبير المرافق مع الجينات المعروف اشتراكها فى التخليق الحيوى أدى إلى الاقتراح بأن At 1920510 وهو فرد من عائلة الإنزيمات التى تنشط بالـ ATP المعتمد على الأسيل كمركب لإنزيم Acyl – COA المطلوب . لقد وجد أن الإنزيم المندمج أو المدمج ينشط OPDA , OPC – 8 : 0 فى الخارج وكذلك كوسط للأحماض الدهنية ذات السلسلة المستقيمة الطويلة (Koo et al. 2006) . فقد وظيفة الطفرات فى نباتات الأرابيدوبسيس تراكم حمض جسمونيك أقل فى استجابة للجروح الميكانيكية مما يعطى دليل مباشر عن دوره فى التخليق الحيوى للجسمونيك آسيد . التراكم الفائق للـ OPC – 8 : 0 فى الطفرات عديمة الوجود كوسيط فسيولوجى وأطلق على الإنزيم OPC – 8 : 0 COA ligase (OPCL1) . لقد اقترح إنزيم قريب الارتباط به (At4905160) بواسطة Schneider et al. (2005) كزميل لإنزيم OPC – 6 : 0 COA ligase . توافقاً مع هذا الدور فإن الإنزيم يقع فى بيروكسيسومات وتعبيره يحفز بواسطة Me JA . هذا ولو أن الإنزيم المدمج يفضل وسط به سلسلة الأحماض الدهنية أعلى من OPC – 6 : 0 كوسائط فى الخارج والطفرة المقابلة لفقد الوظيفة أظهرت مستويات من JA للنوع البرى . إسهام هذه المستويات فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك مازالت محل تساؤل .

الأكسدة – بيتا نفسها تتضمن ثلاثة إنزيمات محورية هى : acyl – COA أوكسيديز (ACX) ، بروتين متعدد الوظائف (MFP يحقق enol – COA هيدراتيز وبيتا – هيدروكسى اسيل – COA ديهيدروجينيز) و ٣ – كيتو آسيل COA ثيوليز (الشكل ٩-٣) . بالرغم من المخرجات المبكرة عن دور الأكسدة – بيتا فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك JA فإن الدليل المباشر لإسهام هذه الإنزيمات تحصل عليه حديثاً جداً . لقد اتضح أن Acx1A يحفز الخطوة الأولى فى الأكسدة – بيتا للمركب – OPC – 8 : 0 COA ووجد أنه مسئول عن معظم إنتاج JA المحفز بالجروح فى الطماطم – توافقاً مع دوره الضرورى فى التخليق الحيوى لحمض JA فإن طفرة الطماطم acx1 تلفت فى نشاط جين الدفاع المحفز بالجروح ومقاومة الحشرات (Li et al. 2005) . فى نباتات الأرابيدوبسيس فإن ACX1 مسئول عن حوالى ٨٠% من إنتاج JA بعد حدوث الجرح

وأن الطفرة المزدوجة acx 1/5 أظهرت سمات النقص الشديد فى JA بما فيهـا إبطـال مقاومة الحشرات وخفض تناسل الذكور . كذلك وجد أن aim 1 فى الأرابيدوبسيس التـى تختل فى واحد من اثنين من جينات MIP وهو يعطى أو يفسد تراكم JA المحفز بالجروح وتعبير جينات التى تعتمد على JA (Delker et al. 2007) . من بين الخمسة جينـات لإنزيم ٣- كيتو أسيل – COA ثيوليز فى الأرابيدوبسيس فإن KAT2 يبدو أنه الأكثـر وثيق الصلة بالتخليق الحيوى لحمض الجسمونيك . فى النباتات المهندسة وراثياً الخادمـة التعبير عن KAT2 فإن تراكم JA المحفز بالجروح انخفـض بـشكل ملحـوظ (٦٥ – ٨٠%) وتحفيز الجين العلامة المعتمد على JA (JR2) يتلف وكلاهما يقعا على موقـع الجرح وجهازياً من الخطوة النهائية فى التخليق الحيوى لحـامض JA فـإن إسـتر -JA COA يتحلل مائياً لأفراد حمض حر . لقد تم تعريف الزميل أسيل – ثيواستريزيس فـى الأرابيدوبسيس واثنان منها من البيروكسيسومال AtACH1 و At ACH2 ولكن الـدليل على اشتراكها فى التخليق الحيوى لحامض JA مازالت غير واضحة .

من الناحية التقليدية ينظر لحمض الجسمونيك على أنـه المنـتج النهـائى للمـسار والهورمون النشط حيوياً . العديد من نواتج التمثيل المختلفـة لحمـض JA والخطـوات الإنزيمية فى تحولاتها الداخلية كان يعتقد أنها تساهم فى سـوية الهورمونـات لمـوازرة والسيطرة على المستويات لحامض الجسمونيك النشط . هذه الرؤيـة تغيـرت حيـث أن الباحث E.E. Farmer أخذ الوضع الأقصى كبادىء للهورمونات الفعالـة حيويـا مثـل مقترنات JA (Farmer 2007) فى الحقيقة يوجد دليل واضح بأن بعض نواتج تمثيل JA ذات خصائص إشارية فريدة وأن بعض العمليات لا يسيطر عليهـا بواسـطة JA ولكـن بواسطة مشتقات JA . كمثال فإن حركة الورقة الليلية nyctinastic فى Albizzia تعتمد على مشابه خاص لمركـب ١٢- أ يـد – JA -O – جلوكوسـيد و ١٢ – أ يـد – JA (تيبيرونيك آسيد) والذى يشترك فى تكوين درنة البطاطس وفى إشارات الدفاع ويبدو أن الإشارة النشطة تمثل الأميد – المرتبط بمقترن الأيزوليوسين PA – Ile عما هو الحال مع JA نفسه (Kang et al. 2006) .

الصلة الوثيقة بـ JA – Ile كإشارة فى الصلاحية الخاص به عرفـت لأول مـرة بواسطة الباحث Wasternack ومعـاونوه الـذين لاحظـوا أن JA , JA – Ile حفـزا استجابات مختلفة عندما استخدما على أوراق الشعير ولكن كلاهما أظهرا نشاطاً بدون أية تحولات داخلية (Kramell et al. 1997) . التخليق الحيوى للـ JA – Ile يتـضمن أدينالية JA متبوعاً بتبادل AMP مع الأيزوليوسين بواسطة إنزيم اقتران الحمض الأمينى سينسيتيز JARI . طفرة Jar 1 فى الأرابيدوبسيس غير حساسة لحمض الجسمونيك عندما يستخدم خارجياً بالنظر لتثبيط نمو الجذور وتحفيز المقاومة لفطر بيثيوم وتحفيز المقاومـة

الجهازية (ISR) والحماية ضد ضرر الأوزون . بالإضافة إلى ذلك فإن اخماد أورثولوج JARI فى نباتات الدخان يتضمن ويؤدى إلى تحفيز جين الدفاع والمقاومة ضد حشرة M.sexta . لذلك فإن الاقتران إلى Ile يبدو ضرورياً لتحت حزمة على الأقل من العمليات المنظمة للجسمونات . لقد تم تعضيد الوظيفة الخاصة للتأشير فى JA – Ile عن طريق ملاحظة أنه على عكس JA أو OPDA فإن JA – Ile تعول التعبير الجينى المعتمد على مخفضات الانهيار الخاصة بالجسمونات (Thines et al. 2007) .

٣- تأشير الجسمونات فى التحفيز الجهازى للدفاعات ضد آكلى النباتات

التحفيز الجهازى لمثبطات بروتينيز الدفاع فى نباتات الطماطم استجابة للجروح الموضعية أو هجوم آكلي النباتات اكتشف بواسطة الباحث Ryan ومعاونوه منذ ٣٥ سنة مضت ومنذ ذلك الوقت اعتبرت كنموذج لدراسة عمليات التأشير على المدى البعيد فى النباتات . لقد تم تعريف عدد من الإشارات الكيميائية فى معمل Ryan والتى تشترك فى التحفيز الجهازى لاستجابات الدفاع . هذا يشمل ببتيدات السيستيمين التى تشتق من بروتينات بادئة أكبر بواسطة عمليات تحليل البروتينات (Pearce et al . 1991) والأوليجوجالاكتيرينويدز والذى يتكون بواسطة إنزيم بولى جالاكتورونيز جهازية المحفز بعد الجروح (Bergey et al . 1999) والجسمونات المشتقة من مسار الأوكتاديكانويد . لقد أقترح Farmer and Ryan نموذج بناء على أى إشارات الجروح الأولية مثل الأوليجوجالاكتيرونويدز والسيستيمين توجه نشاط مسار الأوكتادينويك مما يؤدى إلى انفجار فى إنتاج JA والذى يؤدى فى النهاية تنشيط جينات الدفاع . مسار تأشير الجروح وتداخله مع مسارات تأشير الدفاع والهورمون ودور جزيئات الإشارات الفردية تعرضت للعديد من الإصدارات المرجعية :

(Pieterse et al. 2006 ; Ryan and Pearce 2003 ; Stratmann 2003 ; Howe 2004 ; Lorenzo and Solano 2005 ; Schilmiller and Howe 2005 ; Wasternack et al. 2006 ; Cheong and Choi 2007)

والإشارات الجهازية للجرح نوقشت بالتفصيل بواسطة Schaller and Howe فى هذا المقام سوف نركز على الدور الخاص فى تنشيط تعبير جين الدفاع .

منذ اكتشاف الاستجابة الجهازية للجروح اهتم الباحثون بالإجابة على السؤال : لأى طول مسافة يجب أن تصل إليها الإشارة (Bowles , 1998) . البحوث التى تناولت الإشارة الجهازية للجرح فى نباتات الطماطم أدت إلى اكتشاف السيستيمين فى معمل الباحث Ryan ودورها كإشارة جهازية متحركة تم تدعيمها بالعديد من الملاحظات : لقد أتضح أن السيستيمين ضرورى ويجب أن يكون كافيا للاستجابة الجهازية للجرح حيث أنه يوجه تخليق متراكم JA حيث أنه يتحرك داخل اللحاء عندما يستخدم عند مواقع الجرح ،

كما أن بروتين البادىء يعبر عنه بوجه خاص فى النظام الوعائى . بناء على هذه النتـائج تم اقتراح نموذج بناء عليه فإن السيستيمين يتحرر من جراء تحلل البـروتين مـن بادئـه بمجرد حدوث الجروح وتحمل فى عناصر غربلة وتنقل على طول مصدر لغرض مكوناته فى الأنسجة الجهازية حيث تنشط تخليق حامض الجسمونيك كإشارة ثانوية لتحفيز تعبيـر جين الدفاع (Ryan 2000) .

هذا ولو أن هذا النموذج لا يتوافق تماماً مع الموجودات الحديثة من معمـل Howe فقد أتضح أن التأشير الجهازى يتطلب نشاط السيستيمين وتخليق JA فقـط فـى الأوراق المجروحة وليس الجهازية . بالإضافة إلى ذلك فإن تحفيز جينات الـدفاع فـى الأنـسجة الجهازية تعتمد على منظورية JA والتأشير ولا تعتمد على كفاءة تخليق JA . هذه النتائج فى توافق تام مع ملاحظة أن تعبير جينات مسار أوكتاديكانويد يحفز بواسطة الجروح عند موضع تلف النسيج وليس جهازياً وأنه تحدث زيادة كبيرة فى مستويات JA فـى الأوراق المجروحة وليس فى الأنسجة غير المجروحة . لقد اقترحت هذه النتـائج أن السيـستيمين يعمل عند موضع تلف النسيج ويقوى الاستجابة الجهازية للجروح بواسطة تـدعيم مـسار أوكتاديكانويد ، لخلق إشارة لمسافة طويلة ، وقد تكون JA نفسه أو أى من مشتقاته .

الدور المشترك للسيستيمين الأولى ومسار أوكتاديكانويد فى توليد الإشارة المتحركـة فى اللحاء للتحفيز الجهازى لجينات الدفاع تتوافق فى أو مع موقعهم فى الأنسجة الوعائية لنباتات الطماطم . العديد من إنزيمات مسار الأوكتاديكانويـد – AOC , AOS , LOX تقع فى مصاحبة مع معقد عنصر غربال الخلية حيث أن السيستيمين الأولى يتـراكم فـى خلايا برانشيمية اللحاء . وجود إنزيمات مسار السيستيمين الأولى والأوكتاديكانويـد فـى أنواع الخلايا المختلفة من الحزمة الوعائية أدت إلى اقتراح نمـوذج يـتم فيـه انطـلاق السيستيمين من الخلايا البرانشيمية اللحاء استجابة للجروح وحينئذ تتوفر على سطح الخلايا المجاورة المصاحبة حيث توجه نشاط مسار الأوكتاديكانويد لإنتـاج الإشـارة الجهازيـة وينطلق فى عناصر الغربال للتقل على مسافات طويلة .

حدوث تراكم JA عند موقع الضرر يحدث على الفور ويصل إلى أقصى مستوى بعد ساعة من حدوث الجرح (Doares et al. 1995) ويجب أن يكون مستقلاً عن التغيرات فى تعبير الجين . مازالت هناك أسئلة مثارة : كيف تتم السيطرة على الانفجار الابتـدائى فى إنتاج الجسمونات ؟ وكيف أن إنتاج الجسمونات يكون محدوداً فـى الأنـسجة غيـر المجهزة..؟ من غير الواضح أى مستوى إنزيمات مسار الأوكتاديكانويد التى تعبر تكوينياً وبوفرة فى أوراق الطماطم غير المحمية . هذه الإنزيمات لا تملك وفرة للمواد الوسـيطة الخاصة بها المقابلة وفى هذه الحالة فإن تيسر المادة الوسـيطة يكـون محـدوداً لإنتـاج الجسمونات و / أو يعبر تكوينياً عن مسار إنزيمات الأوكتاديكانون قد تكون غير نـشيطة وتتطلب تحوير ما بعد الترجمة للتنشيط . كلا الفرضيتان فى توافق مع الملاحظة المتكررة

بأن النباتات المهندسة وراثياً التى تعبر بشكل فائق عن إنزيمات مسار الأوكتاديكانويد ليس فيها مستويات راحة زائدة من JA ولكنها تظهر زيادة فى إنتاج JA بعد حدوث الجـــروح (Park et al. 2002)

المواد الوسيطة الأولية لمسار أوكتا (هكسا) ديكانويد عبارة عن أحمـــاض دهنيـــة عديدة غير مشبعة (3 : 16 , 3 : 18) المتوفرة فى ليبيدات الكلوروبلاســت ولكنهـــا لا تيسر بسهولة كبادئات لتخليق JA فى النباتات غيـــر المجروحـــة . الوســـائط الإضـــافية المرتبطة بالليبيد قد تتضمن فوق أكاسيد الايدروجين للحمـــض الـــدهنى ، du OPDA , OPDA الذى يتولد من AOC , AOS , LOX من الأحماض الدهنية المؤســـترة أكثـــر منها الحرة (الشكل ٩-٣) (Buseman et al. 2006) . تيسر هذه المـــواد الوســـيطة كبادئات للتخليق الحيوى لحامض الجسمونيك يسيطر عليها بواسطة أنشطة تحلل الـــدهون والتى قد تتضمن أنواع مختلفة من إنزيمات فوسفوليبزيس والأسيل هيدروليزيس . ولو أنه على عكس DADI المطلوب لإنتاج JA خلال تطور تكاثر الـــذكور ، فـــإن الليبيـــز أو الليبزيس قد تشترك فى انفجار إنتاج JA المحفز بالجروح والذى تم تعريفه على المستوى الجزيئى .

من السيناريوهات المثيرة للاهتمام تلك التى تتناول كيف أن التحوير ما بعد الترجمة يساهم فى تنظيم نشاط مسار الأوكتاديكانويد والانفجار الابتدائى لإنتاج JA بعد الجـــروح وهذه المنظومة وجد حديثاً أنها تشتق من التركيب البللورى لـــ OPR3 للطمـــاطم . لقـــد وجد أن الإنزيم يتبلور كمزدوج متجانس وفيها فإن كل بروتوميريسد الموقع النشط للآخر ازدواجية OPR3 التى تصاحب فقد النشاط لوحظت كذلك فى المحلـــول ممـــا أدى إلـــى الاقتراح بأن نشاط OPR3 قد يسيطر عليه فى الداخل بواســـطة تنظـــيم التـــوازن بـــين المونومير / الايمير . ديمر OPR3 المتبلور وجد أنه يثبت بواسطة أيون الـــسلفات عنـــد السطح الداخلى للديمر . من الخداع أن الكبريتات تقع قريبة من Tyr 364 وتتمركز بشكل تام لمحاكاة بقايا الثيروسين المفسفر مما أدى إلى الاقتراح بأن الديمرة ونشاط OPR3 قد تنظم بواسطة فسفرة Tyr 364 فى الداخل . هذا السيناريو يتوافق مـــع الـــدور المقتـــرح لفسفرة البروتين العكسية فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك وتنظيم الاستجابة للجرح . (Rojo et al. 1998)

استنباطاً لإنتاج JA عند موقع النسيج المضار ونقل الإشارة لمسافة طويلة فإن نشاط استجابات الدفاع فى الأنسجة الجهازية تتطلب COI 1 . لقد تـــم تعريـــف COI 1 منـــذ سنوات عديدة مضت كمكون ضرورى فى مسار تأشير JA فى غربلة للوقوف على عدم حساسيتها للكوروناتين وهو مشتق تركيبـــى لمكـــون (Feys et al. 1994 , Xie et al. JA-Ile (1998 . المخرجات بأن COI 1 جزء مـــن معقـــد Skp/cullen / Fbox

COI1 (SCF) وهو نوع فى إنزيم E3 ليجيز أدت إلى الاقتراح بأن تأشير JA يتحكم فيه بواسطة المنظم السالب الذى يتميز بمحدودية الوجود بوجه خاص بواسطة SCF COI1 وتوجه للتحطم بواسطة 26s بروتياسوم مما يؤدى إلى تنشيط استجابات JA . المنظمات السالبة لتأشير JA ظلت موارية حتى وقت قريب حيث أظهرت دراستان تعريف بروتينات JA2 (دوام Zim جسمونات كأهداف للـ Scf COI1) .

٤- الرؤى والمنظور

بالرغم من التقدم الهائل في السنوات الأخيرة إلا أنه مازالت العديد من الأسئلة مثارة فيما يتعلق بالتخليق الحيوي للجسمونات والتأثير . عندما يؤخذ في الاعتبار التخليق الحيوي لحمض الجسمونيك JA فإنه من المدهش قلة ما هو معروف عن كيفية البداية . السؤال لا يبدو تافهاً كما يبدو . من الواضح أن LOX – 13 المستقر في البلازميد يساعد في تكوين الهيدرو بيروكسيدات الحمض الدهني كخطوة أولى في التخليق الحيوي لحمض JA ولكن وسائط LOX قد تتضمن أحماض دهنية عديدة عدم التشبع حرة تنفرد من ليبيدات الكلوربلاست بواسطة ليبيزيس غير معرفة أو أحماض دهنية تبقى مؤسترة في ليبيدات الغشاء . في الحقيقة فإن وسائط مسار أوكتا (هكسا) ديكانويد توجد في الليبيدات المعقدة في نباتات الأرابيدوبسيس . لقد تم تعريف ١٧ من الليبيدات المعقدة بما فيها المونو والداي جالاكتوسيلا داي أسيل جليسرولات MGDGs , DGDGs وكذلك فوسفاتيديل جليسرول مع OPDA , dnOPDA المؤسترة في مواضع Sn1 و/أو Sn2 . الزيادة السريعة جداً (خلال ١٥ دقيقة) والكبيرة جداً (٢٥٠ – ١٠٠٠ مرة) لليبيدات المعقدة التي تحتوي سلسلتان أوكسي ليبين بعد الجرح وكذلك الوفرة النسبية وتخصص موضعية OPDA , dnOPDA في أنواع الجالاكتوليبيد المختلفة التي تعكس تكوين الجالاكتوليبيدات قبل الجرح مما أدى إلى الاقتراح بأنها تنشأ في نفس المكان بواسطة التحول المباشر للمؤسترات 18:3 و 16:3 . توافقاً مع هذه الملحوظة فإن الجالاكتوليبيدات المحتوية أوكسيلين و AOS وتقع ترافقياً في مكون غشاء الثيلاكويد للكلوربلاست في الأرابيدوبسيس . في ضوء هذا التنوع لليبيدات المحتوية على الأوكسي ليبينات في الأرابيدوبسيس فإن تعريف الليبزيس المشترك في انفرادها وميكانيكيات السيطرة على أنشطتها من المشاكل العاجلة واجبة الاعتبار والحل في المستقبل .

References

Bachmann A, Hause B, Maucher H, Garbe E, Voros K, Weichert H, Wasternack C, Feussner I (2002) Jasmonate-induced lipid peroxidation in barley leaves initiated by distinct 13-LOX forms of chloroplasts. Biol Chem 383:1645-1657

Berger S, Bell E, Mullet JE (1996) Two methyl jasmonate-insensitive mutants show altered expression of AtVSP in response to methyl jasmonate and wounding. Plant Physiol 111:525-531

Charron JBF, Ouellet F, Pelletier M, Danyluk J, Chauve C, Sarhan F (2005) Identification, expression, and evolutionary analysis of plant lipocalins. Plant Physiol 139:2017-2028

Chini A, Fonseca S, Fernandez G, Adie B, Chico JM, Lorenzo O, Garcia-Casado G, Lopez-Vidriero I, Lozano FM, Ponce MR, et al. (2007) The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signalling. Nature 448:666-671

Davin LB, Wang HB, Crowell AL, Bedgar DL, Martin DM, Sarkanen S, Lewis NG (1997) Stere-oselective bimolecular phenoxy radial coupling by an auxiliary (dirigent) protein without an active center. Seience 275:362-366

Delker C, Zolman BK, Miersch O, Wasternack C (2007) Jasmonate biosynthesis in Arabidopsis thaliana requires peroxisomal beta-oxidation enzymes – additional proof by properties of pex6 and aim1. Phytochemistry 68:1642-1650

Farmer EE (2007) Plant biology: jasmonate perception machines. Nature 448:659-660

Feys BJF, Benedetti CE, Penfold CN, Turner JG (1994) Arabidopsis mutants selected for resistance to the phytotoxin coronatine are male sterile, insenitive to methyl jasmonate, and resistant to a bacterial pathogen. Plant Cell 6:751-759

Fox BG, Malone TE, Johanson KA, Madson SE, Aceti M, Bingman CA, Blommel PG, Buchan B, Burns B, Cao J, et al. (2005) X-ray structure of Arabidopsis At1g77680, 12-oxophytodienoate reductase isoform 1. Proteins 61:206-208

Green TR, Ryan CA (1972) Wound-induced proteinase inhibitor in plant leaves: a possible defense mechanism against insects. Science 175:776-777

Hamberg M, Fahlstadius P (1990) Allene oxide cyclase: a new enzyme in plant lipid metabolism. Arch Biochem Biophys 276:518-526

Hofmann E, Zerbe P, Schaller F (2006) The crystal structure of Arabidopsis thaliana allene oxide cyclase: insights into the oxylipin cyclization reaction. Plant Cell 18:3201-3217

Howe GA (2004) Jasmonates as signals in the wound response. J Plant Growth Regul 23:223-237

Ishiguro S, Kawai-Oda A, Ueda J, Nishida I, Okada K (2001) The DEFECTIVE IN ANTHER DEHISCENCE1 gene encodes a novel phospholipase A_1 catalyzing the initial step of jasmonate acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscene, and flower opening in Arabidopsis. Plant Cell 13:2191-2209

Jacinto T, McGurl B, Franceschi V, DelanoFreier J, Ryan CA (1997) Tomato prosystemin promoter confers wound-inducible. vascular bundle-specific expression of the beta-glucuronidase gene in transgenic tomato plants. Planta 203:406-412

Kang J-H, Wang L, Giri A, Baldwin IT (2006) Silencing threonine deaminase and JAR4 in Nicotiana attenuata impairs jasmonate acid-isoleucine-mediated defenses against Manduca sexta. Plant Cell 18:3303-3320

Koo AJK, Chung HS, Kobayashi Y, Howe GA (2006) Identification of a peroxisomal acylactivating enzyme involved in the biosynthesis of jasmonic acid in Arabidopsis. J Biol Chem 281:33511-33520

Laudert D, Hennig P, Stelmach BA, Muller A, Andert L, Weiler EW (1997) Analysis of 12-oxophytodienoic acid enantioers in biological samples by capillary gas chromatography-mass spectromerty using cyclodextrin stationary phases. Anal Biochem 246:211-217

Li L, Li C, Lee GI, Howe GA (2002) Distinct roles for jasmonate sythesis and action in the systemic wound response of tomato. Proc Natl Acad Sci USA 99:6416-6421

Malone TE, Madson SE, Wrobel RL, Jeon WB, Rosenberg NS, Johnson KA, Bingman CA, Smith DW, Phillips GN, Markley JL, et al. (2005) X-ray structure of Arabidopsis At2g06050, 12-oxophytodienoate reductase isoform 3. Proteins 58:243-245

Nakamura Y, Kiyota H, Kumagai T, Ueda M (2006a) Direct observation of the target cell for jasmonate-type leaf-closing factor: genus-specific binding of leaf-movement factors to the plant motor cell. Tetrahedron Lett 47:2893-2897

Pearce G, Strydom D, Johnson S, Ryan CA (1991) A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. Science 253:895-898

Pieterse CMJ, Schaller A, Mauch-Mani B, Conrath U (2006) Signaling in plant resistance responses: divergence and cross-talk of defense pathways. In: Tuzun S, Bent E (eds) Multigenic and induced systemic resistance in plants. Springer, New York, pp 166-196

Ryan CA (1992) The search for the proteinase inhibitor-inducing factor, PIIF. Plant Mol Biol 19:123-133

Snaders PM, Lee PY, Biesgen C, Boone JD, Beals TP, Weiler EW, Goldberg RB (2000) The Arabidopsis DELAYED DEHISCENE1 gene encodes an enzyme in the jasmonate acid synthesis pathway. Plant Cell 12:1042-1061

Schaller F, Weiler EW (1997) Molecular cloning and characterization of 12-oxophytodienoate reductase, an enzyme of the octadecanoid signaling pathway from Arabidopsis thaliana. Structure and functional relationship to yeast old yellow enzyme. J Biol Chem 272:28066-28072

Seo HS, Song JT, Cheong JJ, Lee YH, Lee YW, Lee JS, Choi YD (2001) Jasmonate acid carboxyl methyltransferase: a key enzyme for jasmonate-regulated plant responses. Proc Natl Acad Sci USA 98:4788-4793

Stratmann JW (2003) Long distance run in the wound response – jasmonic acid is pulling ahead. Trends Plant Sci 8:247-250

Tani T, Sobajima H, Okada K, Chujo T, Arimura S, Tsutsumi N, Nishimura M, Seto H, Nojiri H, Yamane H (2007) Identification of the OsOPR7 gene encoding 12-oxophytodienoate reductase involved in the biosynthesis of jasmonic acid in rice. Planta DOI 10.1007/s00425-007-0635-7

Thines B, Katsir L, Melotto M, Niu Y, Mandaokar A, Liu G, Normura K, He SY, Howe GA, Browse J (2007) JAZ repressor proteins are targets of the SCF^{COI1} complex during jasmonate signalling. Nature 448:661-665

Ueda J, Kato J (1980) Isolation and identification of a senescene-promoting substance from worm-wood (Artemisia absinthium L). Plant Physiol 66:246-249

Vick BA, Zimmerman DC (1984) Biosynthesis of jasmonic acid by several plant species. Plant Physiol 75:458-461

Wang C, Avdiushko S, Hildebrand DF (1999) Overexpression of a cytoplasm-localized allene oxide synthase promotes the wound-induced accumulation of jasmonic acid in transgenic tobacco. Plant Mol Biol 40:783-793

Xie D-X, Feys BF, James S, Nieto-Rostro M, Turner JG (1998) COII: an Arabidopsis gene required for jasmonate-regulated defense and fertility. Science 280:1091-1094

Xu LH, Liu FQ, Lechner E, Genschik P, Crosby WL, Ma H, Peng W, Huang DF, Xie DX (2002) The SCF^{COI1} ubiquitin-ligase complexes are required for jasmonate response in Arabidopsis. Plant Cell 14:1919-1935

Yoshihara T, Omer E-SA, Koshino H, Sakamura S, Kikuta Y, Koda Y (1989) Structure of a tuber-inducing stimulus from potato leaves (Solanum tuberosum L). Agric Biol Chem 53:2835-2837

Ziegler J, Keinaen M, Baldwin IT (2001) Herbivore-induced allene oxide synthase transcripts and jasmonic acid in Nicotiana attenuata. Phytochemistry 58:729-738

Zolman BK, Silva ID, Bartel B (2001) The Arabidopsis pxal mutant is defective in an ATP-binding cassette transporter-like protein required for peroxisomal fatty acid B-oxidation. Plant Physiol 127:1266-1278

الباب العاشر

دور الإفرازات الحشرية وإشارات الأحماض الدهنية والتربينات والمواد المتطايرة في تحفيز مقاومة النباتات ضد هجوم الآفات

أولاً : إفرازات الحشرات (الديدان) والاستجابات المحفزة في النباتات

Caterpillar Secretions and Induced Plant Responses

Gary W. Felton

النباتات تستخدم كلا الدفاعات المحفزة المباشرة (التي تؤثر مباشرة على فسيولوجي ملتهم النبات) والدفاعات المحفزة غير المباشرة (الدفاعات التي تجذب أو تحفز من كفاءة الأعداء الطبيعية لملتهمات النباتات) . خلال العقدين الأخيرين حدث تعزيز للدراسات وأتضح أن الإفرازات الفمية ولعاب ملتهمات النباتات تلعب أدواراً هامة في إعالة الاستجابات المحفزة . لقد ركزت الكثير من الدراسات على يرقات حرشفية الأجنحة (الفراشات وأبي دقيقات) وهذا يرجع بدون شك إلى أهميتها الاقتصادية كآفات زراعية وكذلك بسبب السهولة النسبية في العمل على إفرازاتها الفمية . في هذا المقام سوف نركز على إفرازات يرقات حرشفية الأجنحة .

G.W. Felton

Department of Entomology, Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, USA

e-mail : gwf10@psu.edu

A. Schaller (ed.) , Induced Plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١- مقدمة

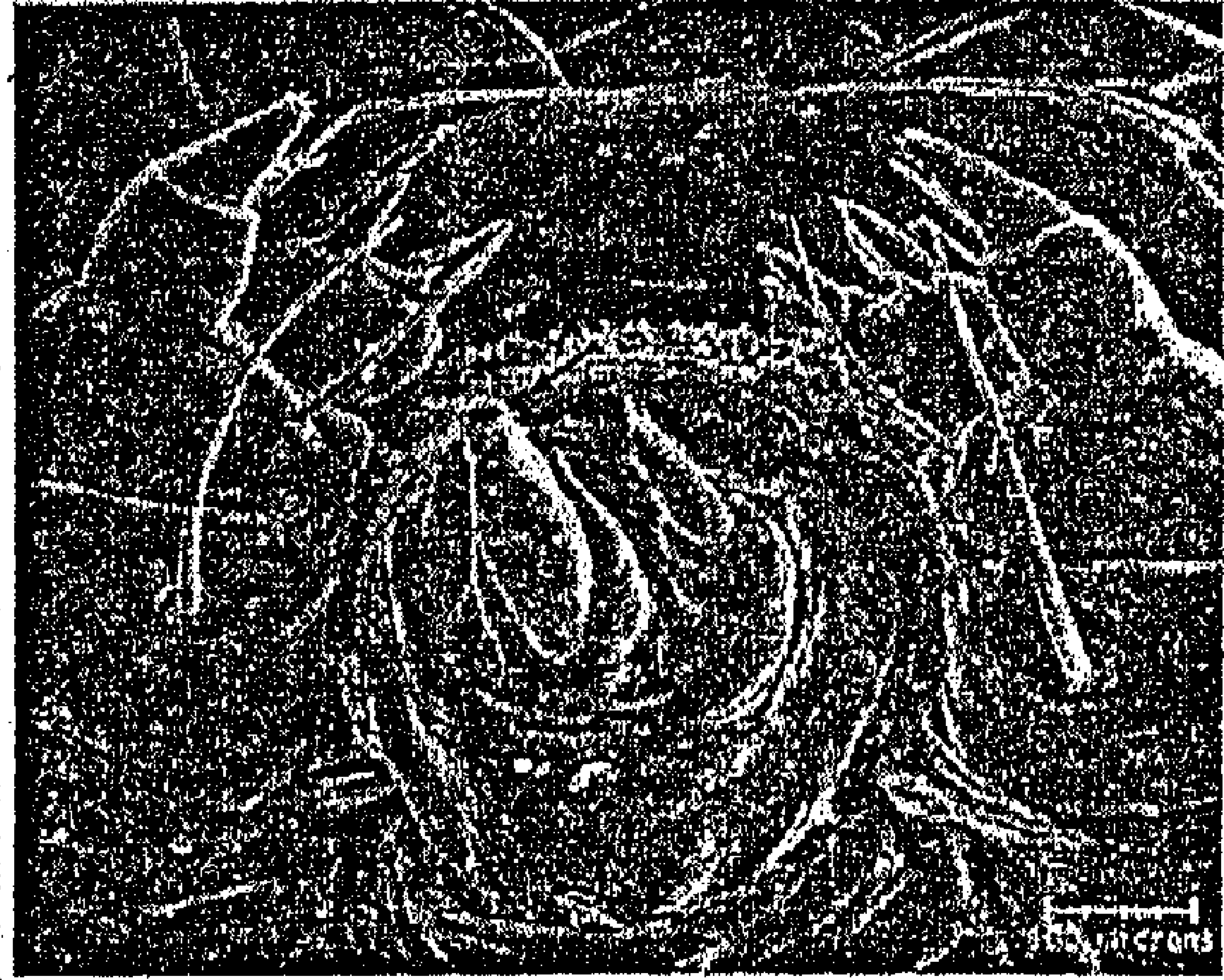
اليرقات تتغذى بواسطة قرض وتناول الأنسجة النباتية مما يؤدي إلى تلف النسيج وهذا ما يكفي لتوجيه استجابات الدفاع النباتية . لقد حاول البحاث محاكاة نظام تغذيتها عن طريق إحداث الجروح في الأنسجة النباتية بواسطة أمواس الحلاقة وثاقبات الفلين وعجل الرسم أو باستخدام MecWorm (Mithofer et al. 2005) . بينما كل من هذه المعاملات يسبب استجابات للجرح في النبات سواء عند موضع الجرح أو جهازياً في

الأنسجة غير المجروحة فقد أصبح من الواضح أن الجرح بنفسه لا يمثل العرض الكامل وتخصصية استجابة النبات لملتهمات الأوراق . لذلك فإن العوامل المرتبطة بأكل النبات يجب أن توجد كي تلطف الاستجابة للجرح و/أو تحفز تفاعلات إضافية في النبات العائل . المثيرات في الحشرات قد توجد في البراز وفي أغلب الأحوال في الإفرازات الفمية لتحديد وتقرير ما إذا كانت الإفرازات الفمية تلعب دوراً إضافياً في تخصصية استجابات النبات للجرح وتستخدم الإفرازات تقليدياً للنباتات المجروحة صناعياً . الحجم الصغير للحشرات آكلي النباتات بخلاف الديدان مثل المن والذباب الأبيض والتربس .. إلخ تجعل دراستها أكثر صعوبة . نمط التغذية الثاقبة الماصة للمن ونطاطات الأوراق وغيرها من الحشرات تضيف مستوى آخر من الصعوبات عند محاكاة طرق تغذيتها . غالبية البحوث على لعابها ركزت على دورها في فقد سمية المركبات النباتية وفي انتشار الممرضات النباتية (Fereres, 2007) وقليل من الدراسات تناولت دورها في تحفيز دفاعات النبات . بالرغم من حجمها الصغير فإن اللعاب يمكن جمعه من المن والذباب الأبيض باستخدام غشاء التغذية . لعاب الحشرات آكلي النباتات كان موضع اهتمام العديد من البحاث والمعاهد البحثية .

٢- الإفرازات الفمية واللعاب ... توضيح

يرقات رتبة حرشفية الأجنحة تملك زوجان من الغدد اللعابية : الغدد الشفية Labial glends والغدد الفكية mandibular (Bordas, 1903) . إفرازات الحرير للغدد الشفية في يرقات دودة الحرير عرفت واستخدمت لسنوات طويلة في الملابس والآن حقيقة أن نفس الغدد تستطيع أن تنتج لعاب مائي غير مرحب بها من قبل العديد من الحشريون . لقد تم تعريف اللعاب Saliva sensu stricto للإشارة فقط إلى إفرازات الغدد اللعابية الشفية والفكية . الغدد الشفية في العادة وبوجه عام طويلة وأنبوبية وتغطى في قناة عامة وحينئذ تنفرد من المغزل (الشكل ١٠-١) spinneret حيث ينفرد نفس التركيب من حيث يفرز وينفرد الحرير . في حالة دودة اللوز الأمريكية فإن الغدد الشفية في اليرقات كان يعتقد خطأ أنها تفرغ وتفرز في القناة الهضمية عند البلعوم ولو أن هذا الاعتقاد تم تصميمه بواسطة بحاث آخرون (Standlea and Yonke, 1968) .

الغدد الفكية أنبوبية ولكنها تختلف فيما بين الأنواع . هذه الغدد دقيقة نسبياً ومفيدة على منطقة الرأس وفي حالات أخرى قد تكون قريبة على امتداد الغدد الشفية وتمتد جيداً في الصور . الغدد تفتح في تجويف أبوديم القناة الفكية . في بعض الأنواع فإن الغدة الإضافية ثانية الفص قد توجد مرتبطة بالفكوك والتي تفتح خلال ثقوب عديدة على كلا جانبي الفكوك (Vegliante 2005) .



Electron micrograph of frontal view of head of larval *Helicoverpa zea*. Arrow points to spinneret, the external secretory structure for silk and labial gland saliva. Aperture in the spinneret for the release of silk and/or saliva is clearly visible. (Micrograph courtesy of Michelle Peiffer)

شكل (١٠-١) : رسم بالميكروسكوب الإليكتروني يوضح منظر أمامي لرأس يرقة H.zea. الأسهم تشير إلى المغزل ، التركيب الخارجي لإفراز الحرير ولعاب الغدة الشفية . الشق في المغزل لإفراز الحرير و/أو اللعاب واضح الرؤية .

الخصائص أو الصفات الكيميائية للعاب اليرقات الحشرية تم تناولها بصعوبة أو بشق الأنفس . توجد البروتينات في لعاب الغدة الشفية ولكن لم يشار إلى الجزيئات الأخرى الكبيرة والصغيرة . إفرازات الغدة الفكية قد تحتوي على بروتينات ولكن لوحظ أن هذه الإفرازات تحتوي كذلك على أقسام مختلفة من الليبيدات مثل الأستيرولات والتراي جلسريدات (Mossadegh 1978) .

الإفرازات اللعابية للغدد الشفية والفكية تميز عن إفرازات القيء أو الإفرازات الفمية Oral secretions (=OS) والتي استخدمت على نطاق واسع في دراسات التداخلات بين النبات وملتهم الأوراق (Liu et al. 2004) . العديد من المعامل مثل Baldwin (Roda et al. 2004), Boland (Arimura et al. 2005), De moraes (De Moraes and Mescher 2004), Dicke (Mattiacci et al. 1995), Korth (Korth and Dixon 1997), Mori (Yoshinaga et al. 2006), Pare (Truitt and Pare 2004), Schmelz (Schmelz et al. 2006), Tumlinson (Tumlinson and Lait 2005), Turlings (Gouinguene et al. 2003) and Wang (Yan et al. 2005) تعمل على OS . هذه الإفرازات تنشأ من الجهاز الهضمي لآكلي النباتات وتحتوي على مواد مشتقة من الحشرات (مثل إنزيمات الهضم) وكذلك المادة النباتية في الأطوار المختلفة للهضم . بسبب أن OS تجمع كالقيء يكون من الممكن أن الكميات الصغيرة للعاب الشفة والفك تجمع خلال هذه العملية .

المكونات النشطة للإفرازات الفمية OS لليرقات أتضح أنها في الغالب مقترنات للحمض الدهني من الحمض الأميني FAC = (Lait et al. 2003) بما فيها فيلوسيثين وهو أول مقترن FAC تم تعريفه كمحفز أو كمثين elicitor . حديثاً وجدت شرائح البروتين النباتي لإنزيم ATP سينيسيز الكلوروبلاستي مع بروتين تحت وحدة r (تسمى انسبتين inceptin) في OS للدودة القارضة وأتضح أنها تحفز بشكل مباشر أو غير مباشر مع الدفاعات في نباتات اللوبيا . كذلك فإن OS قد تحتوي ميكروبات تم تناولها مع الغذاء أو تشتق من مجاميع الميكروبات المتوطنة في الجهاز الهضمي .

٣- الاقترابات التجريبية لدراسة الإفرازات الفمية واللعاب

وظيفة اللعاب فى يرقات الحشرات يمكن أن تقيم باستخدام الاقترابات التشريحية والصيدلانية و / أو الجزيئية . لقد استخدمت الطرق الجراحية Surgical لمنع اليرقات من إفراز اللعاب . هذه الطرق تتضمن استئصال الغدد اللعابية أو كى Cauterization المغزل لمنع إفراز اللعاب . لقد قام Wroniszewska (1966) بالاستئصال الجراحى لغدد دودة الشمع جالاريا ميللونيللا ووجد أن فقد الغدد يسبب خفض فى معدل نمو اليرقات ولو أن السبب الخاص بخفض معدلات النمو لم يكن ملحوظاً . على نفس المنوال قام Mossadegh (1978) بالاستئصال الجراحى للفكوك لفحص دور إفرازاتها على خيوط الحرير وقام بكى المغزل (باستخدام إبرة ساخنة) لمنع ترسب الحرير . لقد استخدم كى المغزل كذلك لفحص دود الحرير فى اقتفاء الأثر الذى يتبع السلوك فى أنواع الحشرات الاجتماعية . كى المغزل والإزالة الجراحية للغدد الشفية استخدمت لفحص وظيفة لعاب الشفة . حديثاً تم استخدام الكى الكيميائى أو الدوائى وهو متوافق ويضمن حدوث كى متجانس . لقد قام Machida عام ١٩٦٥ بإزالة غدة Lyonet (غدة فيليبى Fillippi's gland) أو الاتلاف الشديد لقناتها لتحديد تأثير الأضرار بالغدة على إفراز الحرير .

الإزالة الجراحية للغدد اللعابية خاصة الغدد الفكية التى تكون فى الغالب صغيرة نسبياً تتطلب درجة عالية من المهارة لتفادى قتل اليرقات . بالإضافة إلى ذلك فإن تمثيل النتائج باستخدام طرق التدخل الجراحى يجب أن يتم بحذر لأن شق الكيوتيكل يسبب شلال كبير من استجابات الجروح (Han et al . 1999 , Jarosez 1993 ...) . كى المغزل يفادى هذا التدخل ولكنه محدود على فحص إفرازات غدد الشفية . فى بعض الأنواع (مثل أبى دقيق الكرنب) فإن الكى قد يؤثر بالضرر على سلوك تغذية اليرقات . بالرغم من الحجم الدقيق ليرقات ماندوكاسيكستا فإن مغازلها دقيقة نسبياً ومن الصعب كبها بدون ضرر أجزاء الفم .

الطرق الصيدلانية تشمل المعاملة المباشرة للأنسجة النباتية بإفرازات الفم OS أو إفراز اللعاب . تقليديا يتم جمع OS بواسطة تحفيز اليرقات على القيء والذى يستخدم

حينئذ على جروح النبات الصناعية . يجهز اللعاب بواسطة الإزالة الجراحيــة ومجانــسة الغدد اللعابية مع تقييم متتابع لصفاتها البيولوجية و / أو الكيميائية . لقد اســتخدمت هــذه الطرق بشكل عريض لدراسة مكونات الغدة اللعابية فى مفصليات الأرجل التى تتغذى على الدم (Ribeiro et al . 2004) وفى الحشرات آكلة النباتات (Musser et al. 2002) . لسوء الحظ فإنه فى العديد من الحالات لم يتم تحديد أى من مكونات OS أو متجانــسات الغدة اللعابية تفرز طبيعياً وعادة خلال التغذية . بدون دراسات لاحقة توضح ما إذا كانت هذه المكونات تترسب فعلياً خلال التغذية تصبح الدراسة الصيدلانية محدودة القيمة .

من حسن الطالع تيسر العديد من الاقترابات لتعريف مكونات الإفرازات بداية يمكــن جمع اللعاب مباشرة من المغزل أو اللعاب الذى يترسب على المادة الوسيطة للتغذية حيث يمكن جمعها وتحليلها . حدود هذا الاقتراب فى الوقت الحالى أنها توجد بكميات دقيقة جداً (حوالى أقل من نانوليتر) من اللعاب يمكن جمعه من يرقة واحدة . هذا ولو أنه مع التقدم المذهل فى حساسية الطرق الكيميائية والبيوكيميائية لا يكون هنــاك عــائق فــى طريــق التحليل. جمع اللعاب من المادة الوسيطة بعد التغذية تعانى من نقص المعرفة عن مكــان إفراز المادة المجموعة أى هل هى من الغدد الشفية أو الفكية أو القيء أو أى غدد خارجية أخرى . كذلك فإن البروتينات قد تنهار بسبب وجود البروتييزيس المفرزة المرافقة . فــى حالة إنزيم اللعاب جلوكوز اكسيديز يتم استخدام خليط من الطرق الجزيئيــة والجراحيــة لتحديد ما إذا كان هذا الإنزيم ينتج أولياً فى الغدد الشفية مع إسهام قليل من الغــدد الفكيــة Eichenseer et al. 1999)) . كذلك فإن استخدام جسم متخصص للجلوكوز اكــسيديز يسمح ليس بالتقدير الكمى فقط لكمية الإنزيم المفرز ولكن لإظهار علــى أى جــزء مــن الورقة تقوم اليرقات بإفراز لعابها (Peiffer and Felton 2005) .

لحد علم كاتب هذا الجزء فإن هذا الاقتراب لم يستخدم لتحديد مــا إذا كانــت تفــرز مكونات خاصة للــ OS . فى أحد الأمثلة الدافعة قام Pare ومعاونوه بتعليم بادرات الذرة بثانى أكسيد الكربون مع نظير الكربون $^{14}CO_2$ فى نفس الموضع وســمح ليرقــات دودة ورق القطن الصغرى بالتغذية على الأوراق المعلمة إشعاعياً لتحديد إنتاج الفولوستين . تم جمع الإفرازات الفمية OS من يرقات العمر الثالث ووجدت محتوية علــى ١٢٠ بــارا – مول فولوستين لكل يرقة . عندما وضعت اليرقات التى أكلت الأوراق المشعة على أوراق غير معلمة إشعاعياً تم تقدير كمية الفوليستين التى أدخلت على موقع التغذية ووجدت ١٠٠ بارا – مول لكل يرقة (Truitt and Pare 2004) .

فى النهاية تم التأكد من أن الطرق الجزيئية ذات فائدة قصوى للحصول على كم هائل من المعلومات عن لعاب مفصليات الأرجل . تجهيز وتتبع الطول الكامل للحامض النووى cDNA للغدد اللعابية ومجاميع الجينوم العامل سوف يحسن بشكل عريض فهمنــا عــن وظيفة الغدة اللعابية . حديثاً استخدمت اقترابات البروتيوميك لتعريف البروتينات التى تنتج

فى الغدد والعديد منها لم يتم تعريفها من خلال طرق التقييم الحيوى القياسية أو التقليدية (Valenzuelu 2002) . تحليل التتابعات الجزيئية بواسطة التحليل PSORT (http://psort.hgc.Ip/form2.html1) يمكن أن يعطى ويزود بدليل قوى عن البروتينات التى قد تفرز والتى يمكن أن يتأكد منها بالكشف مع الأجسام المضادة . طرق تداخل RNA (RNAi) استخدمت لخفض جينات اللعاب الخاصة وحينئذ لفحص وظيفتها . ولو أن RNAi وسيلة قوية جداً لتحليل فقد الوظيفة إلا أنه يوجد اهتمام كبير بما يتعدى التأثيرات Pleiotropic الممكنة . إذا كان مطلوب الحقن المباشر للحمض النووى RNAs المتداخل فى الهيموسيل فإن تحفيز الجرح غير المطلوب أو الاستجابات المناعية قد تعقد من استقراء النتائج . فى حالات أخرى فإن التعبير الخاص لجينات التحول فى الغدد اللعابية قد تحقق باستخدام ناقل مثل Piggy Bac Vector وأدى ذلك إلى تقدم كبير نحو فهم وظيفة منتجات الجين (Royer et al. 2005) .

٤- الإفرازات الفمية والدفاعات المحفزة

لقد حدث تقدم ملموس فى الحقبة الزمنية الأخيرة نحو تعريف المثيرات فى الدفاعات المحفزة فى الإفرازات الفمية لليرقات الحشرية . لقد وجدت مجاميع عديدة من المثيرات تتضمن بيتا – جلوكوسيديز ، FACs مثل الفوليستين وحديثاً شرائح ببتيد الكلوربلاست المسماة انسبتينز (Schmelz et al. 2006 , 2007) . تتكون الانسبتينات عندما تهاجم S. Frugiperda نباتات اللوبيا حرة وتهضم بروتين الكلوروبلاست و ATP – سينسيز . كيف تميز النباتات هذه المثيرات الخاصة لآكلات النباتات وتقدم مسارات نقل ونسخ الإشارات لتنظيم الدفاعات المباشرة وغير المباشرة مازال غير مفهوم جيداً . الإفرازات الفمية لليرقات OS (بما فيها FACs) معروف أنها تحفز شلالات من مركبات إشارات حامض الجسمونيك والاثيلين (Kahl et al. 2000) . الانسبتينات توجه الزيادات فى الاثيلين وحمض الجسمونيك وحمض السلسيليك فى اللوبيا . حديثاً أتضح فى نباتات الدخان أن الإفرازات OS / FACs لحشرة M. Sexta تنشط MAP كينيزيس (وهى SIPK و WIPK) وهى تمثل مكونات ضد التنظيم الحيوى لحامض السليسيليك وحمض الجسمونيك والاثيلين (Wu et al. 2007) . بالتتابع فإن إفرازات FACs , OS تسبب تغيرات فى التعبير الجينى وإنتاج المركبات العضوية المتطايرة وكذلك نواتج التمثيل الثانوية (Rode et al. 2004) .

فى أغلب الأحوال أتضح أن الإفرازات الفمية OS تحفز الدفاعات غير المباشرة . استخدام FACs لمواقع الجرح بشكل متكرر وليس دوماً تحاكى ما يحدث مع تغذية الحشرة. من المثير للدهشة أنه فى حالة الحشرة S.Frugiperde والتداخل مع نباتات اللوبيا فإن FACs وجدت غير فعالة كمثيرات . أظهرت دراسات إضافية فى نظم خاصة

أن إفرازات OS قد لا تلعب دائماً دوراً كبيراً فى الدفاعات غير المباشرة . فى أحد الأمثلة فإن شبيه الطفيل العام Campoletis hloridxac لا يفرق بين بادرات الذرة المصابة بنوعين من الحشرات من نفس العائلة H. armigera , P.separate شبيه الطفيل لم يظهر اختلاف فى الانجذاب للنباتات التالفة ميكانيكياً المعاملة بإفراز OS لليرقة أو الماء ولو أنه لوحظت اختلافات واضحة فى انبعاثات المواد المتطايرة بين المعاملات المختلفة . فى بعض الحالات فإن أوراق الدخان التالفة صناعياً ثم عوملت بإفرازات OS لليرقات تبعث نفس مستويات المواد المتطايرة التى تبعث من الأوراق المعاملة بالماء .

ولو أن الإفرازات الفمية OS قد تحفز إنتاج المواد المتطايرة . فإن إنتاجها لا يؤدى دائماً إلى زيادة أو تحفيز الدفاع فى النباتات . إلى جانب دور المواد المتطايرة كإشارات فى جذب الأعداء الطبيعية فإنها قد تجذب كذلك آكلات النباتات كما هو الحال فى حقول البطاطس حيث أن خنافس الكلورادو أكثر انجذاباً للنباتات التالفة أو النباتات المعاملة بالإفرازات الفمية OS للخنفساء أو نطاط الكرنب عما هو الحال مع النباتات غير التالفة . على نفس المنوال فإن يرقات الدودة القارضة أكثر جذباً للرائحة المنبعثة من النباتات المضارة بواسطة آكلات الأوراق بالمقارنة بالنباتات غير المضارة . لقد أدت هذه النتائج إلى الاقتراح بأنه ولو أن المواد المتطايرة المحفزة قد تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات إلا أنها تعزز غزو آكلات النباتات للنباتات التالفة فى بعض الأحيان . هذا من الأهمية بمكان لفحص دور المواد المتطايرة المحفزة فى النظم البيئية الطبيعية . مازالت هناك أمثلة أخرى حيث إفرازات OS لا تحفز الدفاعات غير المباشرة ولكنها تحفز الدفاعات المباشرة . بالإضافة إلى ذلك فإنه فى نباتات الدخان أتضح أن إفرازات OS من حشرة M. Sexter تخفض الدفاع المباشر المحفز وإنتاج الالكالويد نيكوتين . هذا المثال يوضح كيف أن آكل النباتات يحاول الهروب من دفاعات النبات .

٥- اللعاب والدفاعات المحفزة

إذا أخذ فى الاعتبار الدور الهام الذى يلعبه اللعاب Saliva فى مراوغة العائل بواسطة مفصليات الأرجل التى تتغذى على الدم لا يكون مستغرباً إذا قامت الحشرات آكلة النباتات باستخدام استراتيجية دفاعية مشابهة . لقد بدأ معمل كاتب هذا الجزء فى دراسة اللعاب فى تجنب الدفاعات المحفزة باستخدام الحشرة H. Zeh كنموذج . لقد تم إجراء كى المغزل واستخدام مهروس الغدة اللعابية لتحديد أن لعاب الغدة الشفية من حشرة H.Zeh تسكن أو تخفف المقاومة المحفزة وتحفيز الدفاع المباشر (مثل النيكوتين) فى نباتات الدخان . لقد تحصل على دليل متقدم عن دور اللعاب فى خفض المقاومة المحفزة بواسطة الإزالة الجراحية للغدد اللعابية . فصلات مهروس الغدة اللعابية أظهرت أن الجلوكوز أوكسيديز (GOX) مسئول أولياً عن خفض المقاومة . GOX عبارة عن بروتين متوفر

فى لعاب حشرة H. Zea ويعبر عنه بأعلى مستويات خلال تغذية اليرقات . الإنزيم يعول التفاعل الآتى :



$$\& \text{ - D- glucose} + O_2 \rightarrow \text{D- glucono} - 1{,}5 \text{ lactone} + H_2O_2$$

ناتج التفاعل فوق أكسيد الايدروجين H_2O_2 يبدو أنه الأكثر نشاطا فى الخفض . لقد فحص Zong and Wang (2004) دور اللعاب من مهروس الغدة الشفية لثلاثة أنـواع من حشرات حرشفية الأجنحة H. assulta , H.armigera , S.litura فى تحفيز إنتـاج النيكوتين فى نباتات الدخان . لقد أشار الباحثان أن التغذية بواسطة ديدان اللوز أو استخدام مهروس الغدة اللعابية الشفية لهما على جروح النباتات خفضت مـن إنتـاج النيكـوتين . تركيزات GOX عالية بشكل استثنائى فـى H.armigerr ومـنخفض لحـد مـا فـى H.assulta . على العكس فإن التغذية بواسطة S.litura أو استخدام مهروس الغدة الشفية لها والتى لم يكشف عن وجود GOX فيها فشلت فى خفض تحفيز النيكوتين . بناء علـى هذه النتائج والتجارب على GOX الفطرية عندما استخدمت على الأوراق المجروحة تـم الاستنتاج بأن GOX اللعابى (و H_2O_2) تلعب دوراً هاماً فى خفض النيكوتين المحفـز بالجروح (Zong and Wang 2004) .

لقد وجد GOX (الجلوكوز أكسيديز) فى العديد من أنواع يرقات حرشفية الأجنحة وتم الاستنتاج بأن وظيفتها تتمثل فى خفض نظم أخرى . كمثال فإن أوراق الدخان عندما يتغذى عليها ديدان البراعم H. Virescens لم يتم الكشف عن انفراد نيكوتين متطاير ولو أنه إذا استئصل المغزل Ablated يحدث انفجار كبير فى انطـلاق النيكـوتين المتطـاير (Delphia et al. 2006) . دودة البراعم تحتوى على مستويات عالية من GOX ولكـن دوره فى خفض انفراد النيكوتين المتطاير لم يختبر فى هذه الحالة . استئصال المغازل في الدودة القارضة أظهر أن لعابها يخفض من مستويات النسخ فى الجينـين اللـذين يـشفرا الإنزيمات المبكرة فى التخليق الحيوى للتربينويدز فى Medicago truncatula . الإنزيم GOX الذى وجد فى لعاب الدودة القارضة يسبب على نفس المنوال خفض فى مستويات نسخ هذه الجينات . ما إذا كان خفض هذه المستويات من النسخ كافية أو غير كافية لتغيير إنتاج المواد المتطايرة التى تعمل كدفاعات غير مباشرة مازالت غير معروفة .

الدراسات اللاحقة على H.Zea أدت إلى الاقتراح بأن دور اللعاب فى تجنب دفاعات العائل أكثر تعقيداً عما كان يظن فى السابق . فى حالة الطماطم وهو عائـل آخـر فـى H.Zea وجد أن GOX ذات تأثير مختلف عما هو الحال مع الدخان . فى هذه الحالة فإن استخدام GOX الفطرى (وإنتاج H_2O_2) يسبب زيادة كبيرة فى الدفاعات مثل مثبطـات البروتينيز . لقد تأكدت هذه المخرجات باستخدام GOX المنقى على الأوراق المجروحـة ميكانيكيا والتى أوضحت أنه يزيد بشكل كبير من مستويات نسخ جينات مثبط البروتينيـز

(P1 – II) II – كما تم قياسه بواسطة PCR الحقيقى الكمى الوقتى (9RP – PCR) . لقد توقع أن استخدام اللعاب (المجموع من المغازل) يسبب زيادات مشابهة عندما يستخدم على الأوراق التالفة ميكانيكياً حتى الكميات القليلة جداً (أقل من ١ نانوليتر) تحفز بقوة تعبير PI – II . هذه النتائج تعطى مثال عن كيف أن عامل العنفوانية فى الحشرة (GOX و H_2O_2 على التوالى) يمكن أن يستخدم بواسطة النبات كعامل مثير لتحفيز القياسات المناسبة (تحفيز مثبطات البروتينيز فى الطماطم) .

٦– الطبيعية الديناميكية أو الحركية للإفرازات

قد توجد تباينات فى الطرز الفينولوجية فى تركيب إفرازات يرقات الحشرات التى تعتمد على التأثيرات الخاصة بالتطور والبيئة . طور تطور اليرقة له تأثير ملحوظ على تركيب اللعاب . تخليق بعض بروتينات الغدة اللعابية مثل GOX ومشابه الإنزيم تصل لمستوياتها القصوى خلال فترة التغذية لكل انسلاخ بينما البروتينات الأخرى مثل الكيتينيز تصل للمستويات القصوى بعد توقف اليرقات عن التغذية وتبدأ فى الانسلاخ . التعبير المؤقت عن بروتين الغدة اللعابية قد يحدث إشارات هامة حيث يفرز البروتين خلال التغذية. عندما تصل اليرقة إلى الطور غير المتغذى وهو ما قبل العذراء فإن الغدد الشفية تتجه نحو الانتحار الخلوى Apoptosis ووقف تخليق معظم البروتينات . بالإضافة إلى ذلك فإن بعض البروتينات الخلوية قد يتخلص منه فى اللعاب خلال هذه المرحلة من التطور .

ليس الطور اليرقى فقط ولكن نوع غذاء اليرقات كذلك يؤثر بشدة على تكوين وإفراز اللعاب . إنزيم GOX الشفيى (والبروتين الكلى للغدة) فى حشرة H.Zea كانت أعلى كثيراً فى اليرقات المرباة على نباتات الدخان بالمقارنة بنباتات الطماطم أو القطن . استخدام الجسم المضاد المتخصص لإنزيم GOX يسمح بالتقدير الكمى لإنزيم GOX المفرز على سطح الورقة ولقد وجد أن اليرقات تفرز كميات متفاوتة من GOX مع اتجاه إفراز أقل على الطماطم بالمقارنة بالعائلين الآخرين . العمر اليرقى الأخير يفرز ما بين ٠,٤ وحتى ٠,٧ ميكروجرام GOX لكل ساعة . على عكس GOX فإن المشابه الإنزيمى mRNA أكثر انخفاضاً فى اليرقات التى تتغذى على الدخان عن تلك التى تتغذى على القطن أو الطماطم . هذه المخرجات توضح أن كميات البروتينات الخاصة فى اللعاب تنظم بشكل متفاوت وليست تمثل وظيفة البروتين الكلى الموجود فى الغدد . الغدد الشفية من اليرقات التى تتغذى على الدخان ذات المحتوى الأعلى فى البروتين ولكن مستويات المشابه الانزيمى كانت الأقل . ما إذا كانت المعدلات المتفاوتة من الإفرازات للبروتينات المختلفة على العوائل المختلفة ذات أى قيمة تكيفية واجبة الفحص .

نشاط إنزيم GOX الشفى على غذاء صناعى ودودة البيرثا كانت أكبر كثيراً فى اليرقات التى تغذت على غذاء صناعى بالمقارنة بتلك التى تناولت النبات البقولى ميديكاجوترانكتيولا . على العكس فإن تعبير مشابه الإنزيم صعب الكشف عنه فى حشرة H.Zea التى تغذت على غذاء صناعى مقارنة بتلك التى ربيت على نباتات العائل . هذه الدراسات تقدم ضرورة الحذر من تعميم وظيفة اللعاب من اليرقات التى تتغذى على بيئات صناعية .

العائل النباتى له تأثير ملحوظ ليس على تركيب وإفراز اللعاب فقط ولكن على حجم الغدد اللعابية كذلك . لقد أشار الباحث Eiehenseer et al. (2002) أن العائل النباتى أثر بدرجة كبيرة على حجم الغدد الفكية وكذلك على كمية الكاروتينويدز الموجودة H.Zea فى أنسجتها . الغدد الفكية فى اليرقات التى تتغذى على فول الصويا كانت أطول مرتان وفى القطر كذلك بالمقارنة باليرقات التى تغذت على الطماطم أو القطن بالرغم من أن اليرقات كانت متطابقة فى مرحلة التطور . الحجم الزائد للغدد يفترض أن يرجع إلى زيادة حجم الخلية لأنه فى دودة الحرير B. mori فإن عدد خلايا كلا الغدد الشفية والفكية تبقى ثابتة فى العدد (٣٣٠ خلية) ومن ثم فإن الغدد تزداد فى الحجم بمقدار ١٠٠٠ مرة خلال التطور .

كذلك فإن تركيب الإفرازات الفمية OS قد تختلف تبعاً لنوع الغذاء الذى تتناوله الحشرة . حقيقة أن العوائل المختلفة تستجيب بدرجات متفاوتة لتغذية M.sexta ولا توضح فقط وجود اختلافات خاصة بين العوائل فيما يتعلق باستجابات الدفاع ولكن أقترح كذلك أن تركيب الإفرازات تختلف عندما تتغذى الحشرة على عوائل مختلفة (Schmidt et al. 2005) . بينما المصادر الغذائية المختلفة لحشرات M.sexta , H.Virescens فى الطور اليرقى تشمل نباتات العائل وغير العائل إلا أنها لم تؤثر على تركيب الحمض الأمينى لمكون FACs فى الإفراز الفمى OS ولكن يمكن أن تحدث اختلافات كمية أو اختلافات فى مكونات OS الأخرى . كمثال فإن H.subflexa فى العمر اليرقى فشلت فى إنتاج فولوسيتين عندما تغذت قصرياً على ثمار فياليس أنجيولاتا الذى ينقص فيه حمض لينولينك وهو مكون ضرورى فى FAC . الدودة القارضة S.Frvgiperda فقط أتضح أن يرقاتها التى تتناول ATP سينسيز Y – تحت وحدات بروتينات وتنتج شرائح الببتيد المسماة أتسيبتيفات تحفز دفاعات نباتات اللوبيا بشكل كبير (Schmelz et al. 2006 , 2007) .

٧– اللعاب والإفرازات الفمية يجب أن تفحص فى تزامن

الإفرازات الفمية فقط لا تعطى تفسير كامل عن تخصصية الاستجابة المحفزة لليرقات. كمثال فإن S.exigua التى تتغذى على الذرة تثبط تعبير بعض الجينات المحفزة

بالفوليسيتين بالرغم من وجود الفوليستين فى إفرازاتها الفمية OS (Lawremce and Novak 2004) . هذه النتائج وغيرها أدت إلى الاقتراح بأن المكونات الإضافية لإفرازات اليرقات قد تشترك فى هذه الاستجابات . لقد قام معمل Korth بفحص تأثير آكلات النباتات وإفرازات OS واللعاب على الجينات التى تتحكم فى إنتاج التربين فى نموذج M. truncatula . لقد وجد أن التغذية بواسطة S.exigua وإفرازات OS أو FACs (ن – لينولينويل – جلوتامات أو ن – لينو لويل جلوتامات) زادت من مستويات نسخ إنزيم تربين سينسيز المفترض (MTPS , Gomee et al. 2005) . فى دراسة أخرى قام المعمل بفحص تأثير اللعاب على مسار التخليق الحيوى للتربين ووجدأن تشفير النسخ للمسار المبكر للإنزيمات كانت أقل فى الأنسجة التى تعانى من آكلى النباتات (Bede et al. 2006) . لقد تم استئصال اليرقات كما وصف سابقاً وخلص البحاث إلى أن عامل اللعاب وقد يكون GOX تشترك فى خفض مستويات النسخ . أظهرت هاتين الدراستان أنه بالإضافة إلى الجروح فإن كلا الإفرازات الفمية واللعاب هامة فى تقدير استجابة النباتات الدفاعية فى النهاية .

ولو أنه فى نظم العلاقة بين اليرقات / العائل النباتى فإن اللعاب و / أو إنزيم GOX قد لا تتساوى فى الأهمية . الترتيب الدقيق لعدد ٢٤١ جين من نباتات الدخان تعبر فى تباين استجابة لهجوم حشرة M.sexta استخدم لمقارنة استجابة النسخ FACs من قيء حشرة ماندوكا وإنزيم GOX الفطرى . حقن إنزيم GOX (والجلوكوز) فى نسيج الورقة غير المجروحة تنظم بشكل فائق ٣٧ نسخ وتنظم بدرجة أقل النسخ خلال فترة ساعتان ولو أن قليل فقط من الجينات ينظم فى تشابه بعد ساعة من معاملة الأوراق المجروحة بواسطة قيء الماندوكا . لقد استنتج البحاث أن فوق أكسيد الايدروجين لمشتق من إنزيم GOX يعلب دوراً قليلاً فقط فى تحفيز استجابات النباتات الخاصة بالماندوكا . كذلك فإن مهروس الغدة اللعابية (كلاهما الشفى والفكى) من حشرة M. sexta فشلت فى تكبير تعبير مثبط التربسين فى عائلها من نباتات الدخان (Roda et al. 2004) . من غير المستغرب أن إنزيم GOX لا تنتج استجابات نباتية مشابهة لحشرة M.sexta مع الأخذ فى الاعتبار أن هذا النوع لم يكشف عن إنزيم GOX فى اللعاب .

لقد أشار الباحث Delphia et al . (2006) إلى دور إفرازات حشرة OS H.virescens والإفرازات اللعابية على تحفيز التطاير فى أنواع نباتات الدخان التجارية. استخدام طريقة الاستئصال التى وضعت قبلاً لمنع انفراد اللعاب الشفى وجد أن النباتات التالفة بواسطة اليرقات تطلق ١١ مركب متطاير بينما اليرقات التى استئصلت حفزت نفس المركبات الاحدى عشر إلى جانب ٨ مركبات أخرى بالإضافة إلى ذلك فإن النباتات التى تلفت بواسطة اليرقات المستأصلة تطلق كميات أكبر من المركبات المتطايرة ولوحظ أن

معظمها نيكوتين متطاير بالمقارنة بالنباتات التى تلفت باليرقات . من الواضح أن استخدام كلا اللعاب والإفرازات الفمية تحفز قليل من النيكوتين بالمقارنة بما يحفز مع المعاملة بالإفرازات الفمية OS فقط . هذه النتائج توضح أن كلا OS واللعاب ضرورى لإنتاج البروفيل المتطاير لحشرة H. Virescens التى تتغذى على الدخان وأن هذا اللعاب قد يحجب تأثير FACs الموجود فى OS . لقد أدت هذه الدراسات إلى أن آكلات النباتات قد تقلل من دورها فى المحفزات سواء من خلال تحجيم إنتاج المحفزات أو بواسطة حجب تأثيراتها من خلال إفراز المكونات اللعابية .

٨- اللعاب والإفرازات الفمية والمدى العوائلى

الاستجابات النباتية المحفزة لآكلات النباتات الحشرية عبارة عن ظاهرة عريضة الانتشار . لقد درست درجة هذه الاستجابات لآكل النباتات المعين في أمثلة عديدة (Felton et al. 1994 , Stout et al. 1998) . الأول ما إذا كان اتساع غذاء آكل النباتات (أو خصوصية العائل) يعمل كعامل في التخصصية قد تم فحصه في القليل من الحالات . تخصصية التحفيز بواسطة اثنان من اليرقات المتخصصة (مدى ضيق من العوائل) واثنان من اليرقات عامة التغذية (مدى عريض من العوائل) تم مقارنتها في الفجل البري حيث خط عدم وجود نظم عامة في التخصصية بين اليرقات الخاصة والعامة (Agrawal 2000) . الأساس البيوكيميائي والجزيئي للاستجابات المحفزة لم يقدر في هذه الدراسة .

في هذا المقام سنتناول قليل من الأمثلة التي فيها تمثل الإفرازات الفمية والمدى العوائلي لآكل النباتات أهمية في تحديد تخصصية الاستجابات المحفزة . من الأمثلة الكريز الأرضي physalis angulata حيث يرقات الحشرة المتخصصة H.subflexa تعاني من المعدلات المنخفضة من تطفل C.nigriceys عما هو الحال مع اليرقات العامة H.virescens . قوة هذا النظام التجريبي يتمثل في أنه نظام طبيعي وأن نوعي الحشرة Heliothis مرتبطان عن قرب حيث أن الأنواع الأقارب تمثل كلا آكلات النباتات الخاصة والعامة . يرقات H.subflexa التي تتغذى على ثمار الكريز الأرضي تعاني من نقص حمض لينولينك وهو المكون الفاتح للفوسيثين الذي يحفز الدفاعات غير المباشرة . الفولوسيثين غائب في الإفرازات الفمية لليرقات التي تتغذى على الثمار ومن ثم فإن البدوفيلات المتطايرة للنباتات التي تحفز بسبب التغذية على الثمار تختلف عن تلك التي تحفز بواسطة التغذية على الأوراق النباتية . على العكس فإن اليرقات عامة التغذية H.virescens غير قادرة على اكتمال التطور على الثمرة بسبب نقص حامض اللينولينك . في هذا النظام فإن H.subflexa تكتسب ميزة اختيارية بواسطة التغذية على الثمار متجنبة إنتاج المحفز وفي النهاية تجنب التطفل . لقد أوضح البحاث أن الاختلافات في جذب شبيه الطفيل للمواد المتطايرة من النبات المحفزة بهجوم آكل النبات لا تساهم في

معدل التطفل المنخفض لـ H.subflexa ولو أن تركيزها كان منصباً على تحفيز المواد المتطايرة بواسطة التغذية على الأوراق .

تيسر الترتيبات الدقيقة لأعداد الأنواع النباتية المتنامية تقدم وسائل قوية لفحص تخصصية الدفاعات المحفزة لآكلات النباتات في اتجاه اتساع العائل . المدى العوائلي لآكل النبات واستجابات النسخ النباتية درست في أنواع الدخان البري نيكوتينيا اثينيواتا حيث وجد أن استجابات النسخ للتغذية بواسطة المتخصص لنباتات العائلة الخبازية "ماندوكاسيكستا" كانت متميزة عن التغذية بواسطة الحشرات الأكولة العامة "دودة اللوز الأمريكية والدودة القارضة" . الاختلافات في استجابات النباتات كانت مرتبطة ببروفيل محفزات FAC في القيء ولو أن البحاث لم يأخذوا في الاعتبار الإسهام الممكن لعوامل اللعاب مثل إنزيم GOX . لقد وجد أن إنزيم GOX يوجد بمستويات عالية في أنواع حشرات حرشفية الأجنحة ولكن لم يكشف عنه في M.sexta عندما أجرى التقدير بواسطة نشاط الإنزيم وتفاعله مع الجسم المضاد . من المثير للاهتمام أن عدد الجينات التي تعطل ترتبط جيداً مع وجود GOX أو النباتات التي تغذت عليها يرقات الدودة القارضة وديدان اللوز ذات جينات أكثر تعطيلاً عن النباتات التي يتغذى عليها بواسطة M.sexta .

قوة استخدام نظام نبات الدخان – ماندوكا يتمثل في أنه نظام طبيعي درس باستفاضة فيما يتعلق بالاستجابات المحفزة لآكلات النباتات . هذا ولو أن هذا النظام له محدودية تتمثل في أن الترتيب الدقيق يؤدي إلى حزمة مقيدة فقط من ٢٤٠ حشرة M.sexta – استجابات مستجيبة . الأرابيدوبسيس تقدم ميزة واضحة بسبب تيسر ترتيب دقيق كبير وغير متحيز لعدد ٧٢٠٠ جين متميز . باستخدام هذا الترتيب الدقيق (Reymond et al. 2004) أنه توجد اختلافات قليلة في بروفيل النسخ بين النباتات التي تتغذى عليها أبو دقيق الكرنب (ذات مدى عوائلي ضيق) ودودة ورق القطن (مدى عوائلي عريض) . لقد وجد المؤلفون أن الإفرازات الفمية OS لأبي دقيق الكرنب تحفز جينات عديدة لا تنظم بواسطة حمض الجسمونيك وقد أدت التجارب اللاحقة إلى الاستنتاج بأن FACs ليست مسئولة عن تحفيز الجينات استجابة لحشرة أبي دقيق الكرنب خلافاً لما أسفرت عنه الدراسة المذكورة أعلاه . نقص الاختلافات بين الاستجابات لحشرة أبي دقيق الكرنب ودودة ورق القطن مثيرة للدهشة عندما يؤخذ في الاعتبار الاختلافات في الإفرازات الفمية واللعاب بين هذين النوعين من الحشرات . هذا ولو أن كلا النوعين يعانين من نقص إنزيم GOX اللعابي . لم يتمكن البحاث من الكشف عن GOX في أبي دقيق الكرنب وكذلك في دودة ورق القطن. لقد أشار (Reymond et al. 2004) إلى أن الجرح الميكانيكي يحفز جينات عديدة والتي لم تنشط بواسطة تغذية أبي دقيق الكرنب مما أدى إلى الاقتراح بأن OS أو اللعاب قد تكون مسئولة عن الخفض كما أتضح مع H.zea والدخان (Musser et al.

(2002 . هذا ولو أن بروفيل النسخ أظهر اختلافات قليلة أثارت الدهشة بين التغذية بواسطة دودة ورق القطن وأبي دقيق الكرنب .

لقد خلصت الدراسات المتلاحقة صعوبة التعميم بين النظم المختلفة بين آكل النبات والعائل النباتي . حتى M.sexta المتخصصة على نباتات العائلة الجنازية تحفز بروفيلات نسخ متميزة عندما تتغذى على العوائل المختلفة مثل نباتات الدخان أو نبات الظل الليلي الأسود "سولانم نيجرم" . توجد تفسيرات عديدة لهذه المخرجات تتضمن أن تركيب اللعاب أو الأفرازات الفمية OS قد تختلف عندما تغير الديدان من عوائلها النباتية ومن ثم تؤثر على التحفيز و/أو الخفض في الدفاعات . كبديل فإنه قد توجد اختلافات في كيفية قيام الأنواع النباتية الخاصة (أو حتى الأصناف) في تمييز إفرازات آكلات النباتات .

٩- اتجاهات المستقبل والرؤى والمنظورية

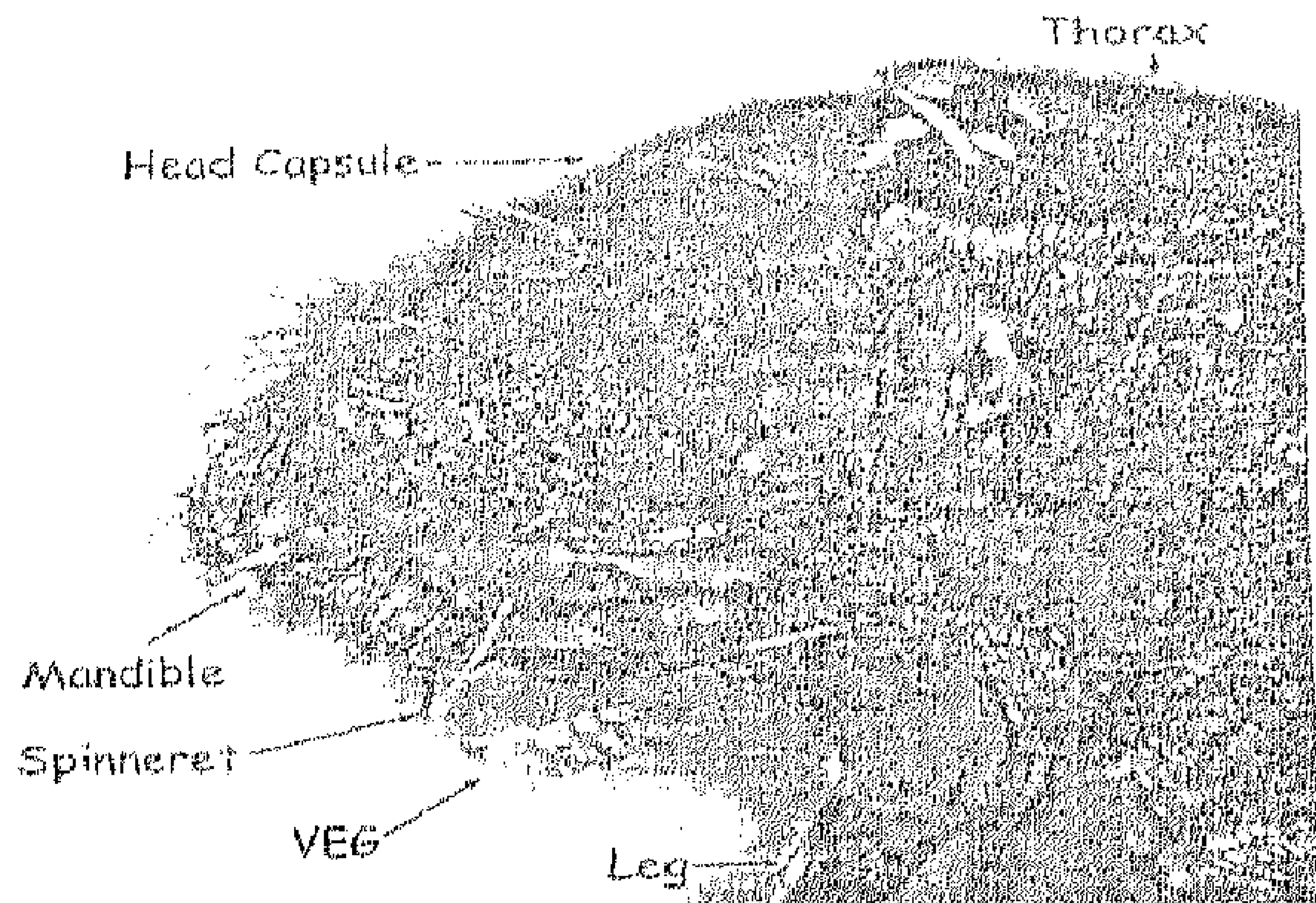
توجد العديد من المتطلبات التي تشكل اتجاه المستقبل في البحوث على إفرازات آكلي النباتات والاستجابات المحفزة . في البداية مع الأخذ في الاعتبار بأن أنواع الحشرات ملتهمة النباتات تفوق في العدد عن المليون وأن إفرازات القليل جداً من هذه الحشرات هي التي تم توصيف إفرازاتها . التحسينات في منظومات البروتينية والتمثيلية تسمح بتحليل الحجوم الدقيقة وهذه سوف تساعد في معرفة وتغطية النقاط القاصرة من حيث تعقيدات إفرازات اليرقات من النواحي الكيميائية والوظيفية والترتيب المستمر للمركبات الجديدة سوف يساعد وبدون شك في تعريف النواحي المطلوبة كلما كثرت الأنواع التي يتم فحصها مثل النطاطات .

مع قليل من الاستثناءات فإن التوصيف الكيميائي للإفرازات الفمية OS ليرقات حرشفية الأجنحة يركز في معظم الأحوال على FACs بينما ركزت جميع بحوث لعاب حرشفية الأجنحة على البروتينات . لحد علم كاتب المقال لا يعرف إلا القليل عن الجزيئات الصغيرة التي توجد في لعابها ولو أن البعض أشار إلى وجود حامض الأسكوربيك والكاروتينويدز وحمض الجسمونيك في الغدد اللعابية بمستويات عالية مع الحمض الأخير ولا يعرف ما إذا كانت هذه الجزيئات تفرز أم لا . إفراز حمض الجسمونيك ذات تأثير واضح في تحفيز الدفاعات النباتية . التحديات التجريبية الأكثر صعوبة تتمثل في جمع حجم كافي من اللعاب لإجراء التحاليل البيوكيميائية ولإجراء التحاليل الصيدلانية مع النباتات . الآن أصبح في الإمكان توفر تكنولوجيا متقدمة للتوصيف البيوكيميائي للجزيئات الصغيرة التي توجد في اللعاب باستخدام طرق HSLC / MC أو GC / MS .

ثانياً فإن قليل جداً من الدراسات تناولت تحليل العلاقة بين الجرعة والاستجابة للإفرازات الفمية OS أو اللعاب عند تحديد التأثيرات على الاستجابات المحفزة . يوجد عدد من الدراسات غير المفسرة التي استخدمت كميات متطابقة من إفرازات OS للاختبار

تعريف خصائص يرقاتها في الغدة البطنية الممكن قلبها (VEG=) وهــو تركيــب إفرازي يوجد على السطح البطني لصدر اليرقة (الشكل ١٠-٢) . وظيفة هذه الغدة مازال غير معروف ولكن يعرف أنها تفرز ليبيدات وبروتينات مختلفة . يعتقد أن إفرازاتها تقــع وتستقر على الوسيط الغذائي بسبب قربها من الفكوك والتجويف الفمي . كذلك يتوقع وجود إفرازاتها في القيء أو في OS عند جمعها . نحن مازلنا في أول الطريق لتحليل مكونات VEG واختبار تأثيراتها على الاستجابات المحفزة .

Light micrograph of lateral view of head of larval *Helicoverpa zea*. VEG = ventral eversible gland, in distended view. (Micrograph courtesy of Michelle Peiffer)



شكل (١٠-٢) : منظر جانبي لرأس يرقة H.zea (VEG=) الغدة البطنيــة الممكن قلبها في الامتداد .

References

Aboshi T, Yoshinaga N, Noge K, Nishida R, Mori N (2007) Efficient incorporation of unsaturated fatty acids into volicitin-related compounds in Spodoptera litura (Lepidoptera: Noctuidae). Biosci Bioteh Biochem 71:607-610

Alborn HT, Brennan MM, Turnlinson JH (2003) Differential activity and degradation of plant volatile elicitors in regurgitant of tobacco hornworm (Manduca sexta) larvae. J Chem Ecol 29:1357-1372

Arimura G, Kost C, Boland W (2005) Herbivore-induced, indirect plant defenses. Biochem Biophys Acta 1734:91-111

Baldwin IT, Halitschke R, Kessler A, Schittko U (2001) Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. Curr Opin Plant Biol 4:351-357

Bede J, Musser R, Felton G, Korth K (2006) Caterpillar herbivory and salivary enzymes decrease transcript levels of Medicago truncatula genes encoding early enzymes in terpenoid biosynthesis. Plant Mol Biol 60:519-531

بصرف النظر عن الصلة الوثيقة لأنواع أو أطوار الحشرات التي استخدمت . هناك حاجة ماسة للوقوف على كمية المحفزات الخاصة خلال التغذية لتحقيق تقدم كبير .

ثالثاً أن هناك حاجة لفهم القيمة المتكيفة لمحفزات الحشرة . إذا كان التحفيز للدفاعات المحفزة المباشرة وغير المباشرة يؤثر سلباً على لياقة الحشرات ملتهمة النباتات كما أقترح قبلاً يجب أن يكون هناك ضغط انتخابي قوي لحجب دفاعات العائل هذه . العديد من السيناريوهات ممكنة الحدوث مثل تحجيم عمل المحفزات وهذا يمكن تحقيقه بإنتاج كمية أقل من المحفز أو حجب تأثير المحفز بواسطة مركبات فمية أو لعابية أخرى (Delphin et al. 2006) . هذا ولو أنه توجد تحديات فسيولوجية نحو تحجيم إنتاج المحفزات إذا كانت تؤدي وظائف فسيولوجية حيوية خطيرة . في حالة FACs فإن وظيفتها أو وظائفها غير معروفة ولكنها قد تعمل كمواد نشطة سطحياً في المعدة و/أو تسهل امتصاص المواد المغذية . تفعيل الجينات التي تنظم تخليقها الحيوي سوف يسهل استخدام الاقترابات الجزيئية مثل تداخل RNA لفحص وظيفتها في داخل الكائن . من الاستراتيجيات الأخرى لتفادي دفاعات العائل ما يتمثل في تحفيز مسار منافس – واحد من تلك التي تنظم العبور السلبي مع مسار الجسمونات (مثل الساليسيلات) . لقد لوحظ الاقتراب الأخير مع العديد من الطرز الممرضة لبكتريا بسيدوموناس سيرنجيا على حساب المقاومة الجهازية التي تعتمد على الساليسيلات ولا يعرف حتى الآن ما إذا كانت ملتهمات النباتات تستخدم هذه الاستراتيجية أم لا .

رابعاً فإن هناك حاجة لفهم كيفية إحداث الفعل والمواضع المستهدفة للمحفزات . لا يعرف إلا القليل جداً على المستوى الجزيئي كيف أن النباتات تميز المحفزات مثل FACs وكيف تنشط حينئذ استجابات النسخ . لقد تحصل على أدلة عن التداخل بين المحفز والبروتين من الدراسات على نقل أو غسيل الذرة حيث أتضح أن مكونات غشاء البلازما يربط الفوليستين (Truitt et al. 2004) . معاملة الأوراق بالميثيل جسمونات زاد من ارتباط الفوليستين مع مكون غشاء البلازما . هناك حاجة لدراسات إضافية لتحديد ما إذا كان بروتين أو بروتينات غشاء البلازما يعمل كناقل غشائي و/أو كمستقبل لشلالات الرسول الثانوية النشطة .

في النهاية فإن تركيب غدي إضافي قد يكون هاماً في الإفراز خلال تغذية آكل النباتات . هناك زعم غير حقيقي بأن حشرات حرشفية الأجنحة تمثل العائلة الأكبر حيث تم

Carroll MJ, Schmelz EA, Meagher RL, Teal PEA (2006) Attraction of Spodoptera frugiperda larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. J Chem Ecol 32:1911-1924

Delphia C, Mescher M, Felton GW, De Moraes CM (2006) The role of insect-derived cues in eliciting indirect plant defenses in tobacco, Nicotiana tabacum. Plant Signal Behav 1:243-250

Eichenseer H, Murphy JB, Felton GW (2002) Sequestration of host plant carotenoids in the larval tissues of Helicoverpa zea. J Insect Physiol 48:311-318

Felton GW, Eichenseer H (1999) Herbivore saliva and its effects on plant defense against herbivores and pathogens. In: Agrawal AA, Tuzun S, Bent E (eds) Induced plant defenses against pathogens and herbivores. APS Press. St. Paul, pp 19-36

Giri AP, Wunsche H, Mitra S, Zavala JA, Muck A, Svatos A, Baldwin IT (2006) Molecular interactions between the specialist herbivore Manduca sexta (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host Nicotiana attenuata. VII. Changes in the plant's proteome. Plant Physiol 142:1621-1641

Gomez SK, Cox MM, Bede JC, Inoue K, Alborn HT, Tumlinson JH, Korth KL (2005) Lepidopteran herbivory and oral factors induce transcripts encoding novel terpene synthases in Medicago truncatula. Arch Insect Biochem Physiol 58:114-127

Hartley SE, Lawton JH (1987) Effects of different types of damage on the chemistry of birch foliage, and the responses of birch feeding insects. Oecologia 74:432-437

Howard RW, Baker JE (2004) Stage-specific surface chemicals of Plodia interpunctella: 2-acyl-1,3-cyclohexanediones from larval mandibular glands serve as cuticular lipids. Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol 138:193-206

Jarosz J (1993) Induction kinetics of immune antibacterial proteins in pupae of Galleria mellonella and Pieris brassicae. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 106:415-421

Karim S, Ramakrishnan VG, Tucker JS, Essenberg RC, Sauer JR (2004) Amblyomuna americanum salivary glands: double-stranded RNA-mediated gene silencing of synaptobrevin homologue and inhibition of PGE2 stimulated protein secretion. Insect Biochem Mol Biol 34:407-413

Kessler A, Baldwin IT (2002) Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. Ann Rev Plant Biol 53:299-328

Kramer KJ, Spiers RD, Lookhart G, Seib PA, Liang YT (1981) Sequestration of ascorbic acid by the larval labial gland and hemolymph of the tobacco

hornworm, Manduca sexta L (Lepidoptera, Sphingidae). Insect Biochem 11:93-96

Lawrence SD, Novak NG (2004) Maize genes induced by herbivory and volicitin. J Chem Ecol 30:2543-2557

Liu F, Cui L, Cox-Foster D, Felton GW (2004) Characterization of a salivary lysozyme in larval Helicoverpa zea. J Chem Ecol 30:2439-2457

Major IT, Constabel CP (2006) Molecular analysis of poplar defense against herbivory: comparison of wound- and insect elicitor-induced gene expression. New Phytol 172:617-635

Miles PW (1999) Aphid sliva. Biological Reviews 74:41-85

Musser RO, Cipollini DF, Hum-Musser SM, Williams SA, Brown JK, Felton GW (2005a) Evidence that the caterpillar salivary enzyme glucose oxidase provides herbivore offense in solanaceous plants. Arch Insect Biochem Physiol 58:128-137

Mutti NS, Park Y, Reese JC, Reeck GR (2006) RNAi knockdown of a salivary transcript leading to lethality in the pea aphid, Acythosiphon pisum. J Insect Sci 6:38

Nomura K, Melotto M, He SY (2005) Suppression of host defense in compatible plant Pseudomonas syringae interactions. Curr Opin Plant Biol 8:361-368

Orozco-Cardenas ML, Narvaez-Vasquez J, Ryan CA (2001) Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. Plant Cell 13:179-191

Peiffer M, Felton GW (2005) The host plant as a factor in the synthesis and secretion of salivary glucose oxidase in larval Helicoverpa zea. Arch Insect Biochem Physiol 58:106-113

Reymond P, Bodenhausen N, Van-Poecke RMP, Krishnamurthy V, Dicke M, Farmer EE (2004) A conserved transcript pattern in response to a specialist and a generalist herbivore. Plant Cell 16:3132-3147

Roda A, Halitschke R, Steppuhn A, Baldwin IT (2004) Individual variability in herbivore-specific elicitors from the plant's perspective. Mol Ecol 13:2421-2433

Royer C, Jalabert A, Da Roche M, Grenier AM, Mauchamp B, Couble P, Chavancy G (2005) Biosynthesis and cocoon-export of a recombinant globular protein in transgenic silkworms. Transgenic Res 14:463-472

Schmidt DD, Voelckel C, Hartl M, Schmidt S, Baldwin IT (2005) Specificty in ecological interactions attack from the same Lepidopteran herbivore

results in species-specific transcriptional responses in two Solanaceous host plants. Plant Physiol 138:1763-1773

Stout MJ, Workman KV, Bostock RM, Duffey SS (1998) Specificity of induced resistance in the tomato, Lycopersicon esculentum. Oecologia 113:74-81

Tumlinson JH, Lait CG (2005) Biosynthesis of fatty acid amide elicitors of plant volatiles by insect herbivores. Arch Insect Biochem Physiol 58:54-68

Turlings TCJ, Tumlinson JH, Lewis WJ (1990) Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. Science 250:1251-1253

Uppalapati SR, Ayoubi P, Weng H, Palmer DA, Mitchell RE, Jones W, Bender CL (2005) The phytotoxin coronatine and methyl jasmonate impact multiple phytohormone pathways in tomato. Plant J 42:201-217

Valenzuela JG (2002) High-throughput approaches to study salivary proteins and genes from vectors of disease. Insect Biochem Mol Biol 32:1199-1209

Von Dahl CC, Havecker M, Schlogl R, Baldwin IT (2006) Caterpillar-elicited methanol emission: a new signal in plant-herbivore interactions. Plant J 46:948-960

Williams L, Rodriguez-Saona C, Pare PW, Crafts-Brandner SJ (2005) The piercing-sucking herbivores Lygus hesperus and Nezara viridula induce volatile emissions in plants. Arch Insect Biochem Physiol 58:84-96

Wu J, Hettenhausen C, Meldau S, Baldwin IT (2007) Herbivory rapidly activates MAPK signaling in attacked and unattacked leaf regions but not between leaves of Nicotiana attenuata. Plant Cell 19:1096-1122

Yan ZG, Wang CZ (2006) Similar attractiveness of maize volatiles induced by Helicoverpa armigera and Pseudaletia separata to the generalist parasitoid Campoletis chlorideae. Entomol Exp Appl 118:87-96

Yoshinaga N, Kato K, Kageyama C, Fujisaki K, Nishida R, Mori N (2006) Ultraweak photon emission from herbivory-injured maize plants. Naturwissenschaften 93:38-41

Zhao Y, Thilmony R, Bender CL, Schaller A, He SY, Howe GA (2003) Virulence systems of Pseudomonas syringae pv. tomato promote bacterial speck disease in tomato by targeting the jasmonate signaling pathway. Plant J 36:485-499

Zong N, Wang CZ (2004) Induction of nicotine in tobacco by herbivory and its relation to glucose oxidase activity in the labial gland of three noctuid caterpillars. Chenese Sci Bull 49:1596-1601

ثانياً : الإشارات المشتقة من الحامض الدهني التي تحفز أو تنظم دفاعات النباتات ضد آكلي الأوراق

Fatty Acid-Derived Signals that Induce or Regulate Plant Defenses Against Herbivory

James H. Tumlinson and Juergen Engelberth

حمض الجسمونيك وغيره من مشتقات حمض اللينولينيك تنتج فى النباتات بواسطة مسار أوكتاديكانويد وكذلك مشتقات الحامض الدهنى ذات الستة ذرات الكربون والتى يطلق عليها مركبات الورقة الخضراء تلعب أدواراً رئيسية فى تنظيم دفاعات النباتات ضد آكلات الأوراق . كذلك وجد مقترنات حامض اللينولينك مع الجلوتامين والجلوتامات فى قيء العديد من يرقات حرشفية الأجنحة وكذلك فى الحفارات ويرقات الدروسوفيلا . فى جميع هذه الحالات فإن بادىء حمض اللينولينيك للمركب المنظم ينتج بواسطة النبات الذى يتغذى عليه الحشرة . حديثاً تم عزل وتعريف المحفزات من المواد المتطايرة النباتية تحتوى على شق حمض دهنى من ١٦ ذرة كربون سواء مع سلسلة مشبعة أو رابطة زوجية عند ذرة الكربون السادسة فى السلسلة من بصاق النطاطات . أصل ومنشأ محفزات النطاطات غير معروفة حتى الآن . كذلك لا يعرف عن مدى نشاط المحفزات التى تنتج بواسطة آكلى النباتات عبر الأنواع النباتية . بالإضافة إلى ذلك فإنه مازال غير مفهوم الميكانيكيات التى تعمل من خلالها مركبات الأوراق الخضراء والمحفزات فى تحضير تفاعلات الدفاع فى النباتات ولو أنه يبدو أنها تؤثر على مسار الأوكتاديكانويد فى المسارات المختلفة .

JH. Tumlinson

Department of Entomology , Pennsylvania State University park , PA 16802 , USA

e-mail ; jht2@psu.edu

A. Schaller (ed.) Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١ – مقدمة

عندما تقوم يرقة حرشفية الأجنحة بقرض الورقة فإنه يحدث توجيه لسلاسل من التفاعلات التى تمكن النبات من الدفاع ضد آكل النباتات وتحجيم الضرر . ميكانيكيات الدفاع البيوكيميائية للنباتات متقدمة جداً حيث قد تعمل مباشرة ضد آكلى النباتات بواسطة منع التغذية أو تثبيط الهضم . كبدائل فإن الدفاعات غير المباشرة قد تحفز مما يؤدى إلى انطلاق خليط معقد من المركبات العضوية المتطايرة (VOCS) لتطويع الأعداء الطبيعية والطفيليات والمفترسات لآكلات النباتات . تخصصية استجابات النبات للحشرات مثيرة للذهول . الضرر الميكانيكى وحده كمثال يحفز تفاعلات دفاع النباتات والذى يختلف فى معظم الحالات عن الدفاعات المحفزة بالحشرات والتى تتضمن وضع واستقرار المواد المشتقة من الحشرات على النبات المحطم (Arimura et al. 2004) . مخاليط المواد المتطايرة VOCs المحفزة بأكل الأوراق والتى تنطلق بواسطة النباتات خلال النهار تختلف بشكل درامى عن المخاليط المحفزة التى تنتج ليلاً (Loughrin et al. 1994) . هذا بينما مخاليط المواد المتطايرة النهارية تجذب الأعداء الطبيعية فإن المخاليط الليلية قد تمنع وضع البيض بواسطة ملتهمى النباتات الحشرية . مهاجمة أنواع مختلفة من آكلات النباتات على نفس النوع / أو الصنف النباتى يحفز إطلاق مخاليط مختلفة من المواد المتطايرة العضوية VOCs كما أن الأعداء الطبيعية تستطيع التمييز بين النباتات التى هوجمت بواسطة العائل وتلك التى هوجمت بدون العائل على أساس تركيب الخليط (DcMoraxs et al . 1998) . بالإضافة إلى ذلك فإن النباتات تستجيب جهازياً لهجوم آكل الأوراق مع الأوراق غير التالفة والتى تطلق مخاليط VOC تختلف فى التركيب عن المخاليط التى تنطلق من الأوراق التالفة بواسطة آكلات النباتات (Rose et al. 1996).

الهجوم والهجوم المضاد تنظم بواسطة العديد من الإشارات الكيميائية التى تنظم العلاقة بين النبات وآكلات الأوراق . الحشرات ملتهمة النباتات تنتج كيميائيات فى لعابها و/ أو القيء الذى يوجه تفاعلات الدفاع النباتية . آكلات النباتات قد تنتج كذلك مواد تضاد أو تغير من تفاعلات الدفاع فى النباتات . النباتات الواقعة تحت هجوم آكلات الأوراق تخلق وتطلق مخاليط مواد عضوية متطايرة VOC والتى تدرك وتجذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات . هذه المخاليط أو المكونات قد تدرك أيضاً بواسطة النباتات المجاورة وتعمل كإشارات تحذيرية قفز النباتات المستقبلة لتجهيز دفاعاتها ضد الهجوم المتوقع (Ton et al. 2007) . الإشارات الداخلية كذلك تلعب دوراً فى إبداء وتنظيم دفاعات النبات . بوجه خاص يعتقد أن مسار الأوكتاديكانويد يعتقد أنه يلعب دوراً كبيراً فى الاستجابة لأكل النبات وبداية وتنظيم ميكانيكيات الدفاع الكيميائية .

فى كل من هذه الحالات فإن مشتقات الحمض الدهنى أو نواتج التمثيل تعمل كإشارات فاتحة أو مكونات الإشارات والتى تعول التفاعلات البيوكيميائية والتداخلات .

أهمية الأحماض الدهنية فى هذه العمليات قد تكون وببساطة ناتجة من محدوديتها فى الطبيعة وأدوارها كمصادر للطاقة وبادئات التخليق الحيوى للعديد من المركبات الهامة فى النباتات والحيوانات . مقدرتها على التحوير بواسطة تفاعلات الاقتران مع جزيئات أخرى مثل الأحماض الأمينية أو بواسطة الأكسدة أو الاختزال لتغيير ذوبانيتها وتفاعلاتها والخواص الأخرى التى تجعل منها مواد وسيطة ممتازة كما ستذكر فيما بعد فإنها مكونات للإشارات الداخلية والخارجية التى تنظم تفاعلات الدفاع فى النباتات ضد هجوم آكلات النباتات الحشرية .

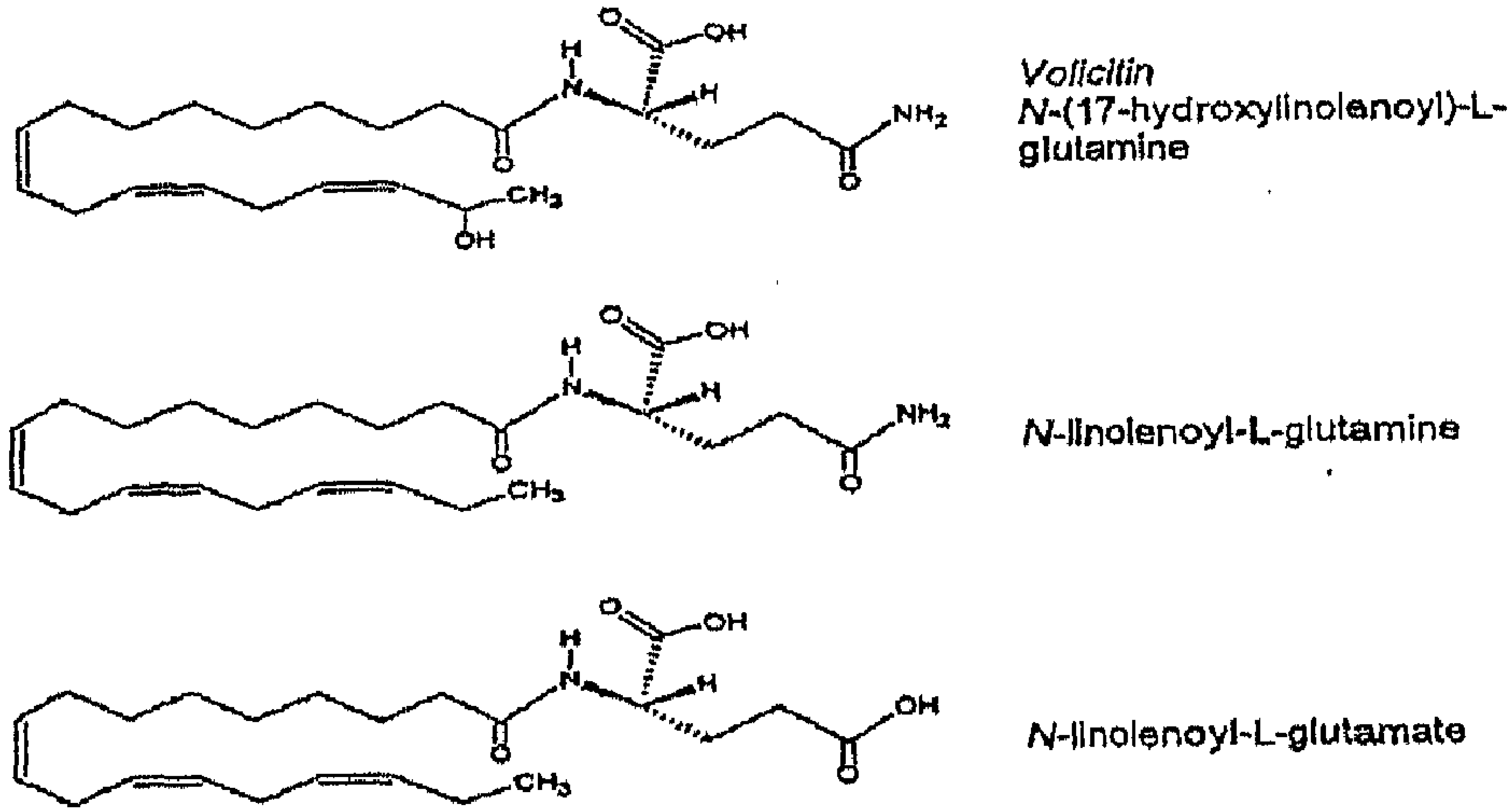
٢- محفزات دفاع النباتات التى تنتج بواسطة آكلات العشب الحشرية

٢-١- مقترنات الحمض الدهنى - الحمض الامينى

أول محفز غير بروتينى للمواد المتطايرة النباتية تم اكتشافه فى الحشرات آكلة النباتات حيث تم عزله وتعريفه من قىء الدودة القارضة للبنجر S. exigua عزل وتعريف هذا المركب N- (17 – hydroxylinolenoyl) – L – glutamine والمسمى فوليستين Volicitin (الشكل ١٠-٣) بنى على أساس مقدرته على تحفيز بادرات الذرة لإطلاق المركبات المتطايرة (Alborn et al. 1997) . بعد ذلك تم الكشف عن مقترنات أخرى للحمض الدهنى - الحمض الأمينى (FACs) فى الإفرازات الفمية أو سوائل قىء العديد من يرقات الديدان (Pare et al. 1998) . الخصائص الشائعة لمقترنات FACs المشتقة من الحشرات اكتشفت وكان من أهمها وجود إما L – أو L– جلوتاميك آسيد المرتبط عبر رابطة الأميد إلى حمض اللينولينيك . المحفزات الأكثر فاعلية فى مجموعة FACs هذه بناء على التقييم الحيوى أجريت على بادرات الذرة والدخان كانت مشتقات حمض اللينولينيك (الشكل ١٠ - ٣) .

المركبات الثلاثة الموضحة فى الشكل (١٠-٣) أتضح أنها جميعاً محفزات للمواد العضوية المتطايرة النباتية ولو أنها ذات أنشطة متفاوتة (Halitschke et al. 2001) . فى بادرات الذرة وجد البحاث أن المقترنات تعانى من نقص الايدروكسيل على ذرة الكربون (١٧) لحمض اللينولينيك لأقل من نصف النشاط عن الفوليستين . فى توافق أشار Sawadu et al. (2006) أن N– لينولينويل -L– جلوتامين له ٣٠% فقط من نشاط الفوليستين مما يعضد أهمية الايدروكسيل على الكربون (١٧) لحدوث النشاط الحيوى . توجد قليل من المعلومات الميسرة عن النشاط الخاص لهذه المركبات أو مشتقاتها على النباتات الأخرى ولكنه فى بعض الأنواع وجد أن لها تأثير أو نشاط قليل إن لم يكن لها أصلاً المحفز الأكثر نشاطاً على بادرات الذرة الفوليستين يحتوى على ذرتى كربون غير متماثلتين . من المثير للاهتمام أن الفوليستين المخلق الذى عمل مع D– جلوتامين لا يحفز انبعاثات المواد المتطايرة عندما استخدم على النباتات (Alborn et al. 2000) . على

العكس فإن تناسق الكربون (١٧) فى سلسلة حامض اللينولينيك الذى ترتبط بها مجموعة الايدروكسيل فى الفوليستين لا يبدو أنها حرجة أو تمثل دور حرج فى النشاط والفاعلية فى العمل الأول ولو أن البحاث لم يقدموا بتحديد التناسق على ذرة الكربون (١٧) فى الفوليستين الطبيعى من يرقات الدورة القارضة التى تصيب البنجر إلا أنه وجد أن الفوليستين المخلق وهو راسيمى عند هذا الموضع يبدو متساوياً فى الكفاءة للمحفز الطبيعى حيث يحفز إطلاق المواد المتطايرة فى بادرات الذرة (Tumlinson et al. 2000) . بينما التناسق المطلق للفوليستين من الأنواع العديدة من يرقات حرشفية الأجنحة حددت حديثاً على أنها (S) إلا أن هذا لا يبدو ذات صلة وثيقة بالنشاط الحيوى . لقد وجد Sawada et al. (2006) عدم وجود اختلافات كبيرة فى كمية المواد المتطايرة المنطلقة من بادرات الذرة المحفزة مع الفوليستين (17S) أو – (17R) . لذلك يكون من الواضح أنه فى بادرات الذرة فإن تناسق ذات الكربون غير المتماثلة فى الجلوتامين أكثر دوراً محدداً عما هو الحال مع C17 الهيدروكسلية لحامض اللينولينيك فى تحفيز التخليق الحيوى وإطلاق المركبات العضوية المتطايرة .



شكل (١٠-٣) : تراكيب مقترنات حمض اللينولينيك – الحمض الأمينى الذى وجدت فعالة كمحفزات لإطلاق VOC فى بادرات الذرة . هذه المركبات ومشتقاتها لحمض اللينولينيك وجدت فى قيء يرقات العديد من أنواع حرشفية الأجنحة وحديثاً وجدت فى يرقات الحفارات والدروسوفيلا . الترتيب على الكربون (١٧) وجد أنه (S) فى الفوليستين المعزول من الحشرات. ولكن كلا – (17R) و (17S) – فوليستين وكذلك المركب الراسيمى متساوية فى الفاعلية عندما استخدمت على بادرات الذرة .

فى معظم الحالات التى وصفت قبلاً فإن النباتات التى أثيرت بواسطة الحشرات ملتهمة النباتات أو التى عوملت بقىء اليرقات تطلق كميات أكبر نسب مختلفة من المواد المتطايرة VOCs عما هو الحال مع النباتات التى تثار ميكانيكيا فقط .Wei et al) (2006 مع بعض الأنواع مثل فول الليما فإن التلف الميكانيكى الشديد أتضح أنه يؤدى إلى إطلاق كميات كبيرة من VOCs ويبدو أن هذه النباتات لا يستجيب للمحفزات المشتقة من الحشرات (Spiteller et al. 2001) . هذا وبالرغم من أن حقيقة أن أشباه الطفيليات المتخصصة تستطيع أن تميز المركبات المتطايرة المحفزة بواسطة يرقات العائل عن تلك التى تحفز بواسطة يرقات غير العائل حتى لو تغذت كلا نوعى اليرقات على نفس النوع أو صنف النبات فى نفس الموقع (De Moraes et al. 1998) وقد أتضح أن الحشرة آكلة النباتات المنتجة للمواد قد تلعب دوراً محدداً فى تحفيز دفاعات النبات والمخاليط المتطايرة الخاصة من آكلات الأوراق .

بينما يبدو أن FACs وجد فى معظم يرقات حرشفية الأجنحة فإنه حتى الآن لا يعرف كيف حدث الانتشار العريض لهذه المحفزات بين الرتب الأخرى من الحشرات . حديثا جداً اكتشف (2007) .Xoshinaga et al مركبات ن – لينولينويل و ن – لينوليويل جلوتامات وكذلك FACs الهيدروكسيلية ومقترنات جلوتامين من قىء نوعين متقاربين من النطاطات وفى يرقات الدروسوفيلا . هذا ولو أن (2001) Halitschke et al أشار إلى أن FACs وجدت فى الإفرازات الفمية لحشرة ماندوكاسيكتا كانت ضرورية وكافية لاستجابات النباتات الخاصة بآكلات الأوراق كما أن المحفزات FACs ليست هى المركبات الوحيدة التى تنتج بواسطة اليرقات الحشرية القارضة مع مقدرة على تحفيز تفاعلات الدفاع بواسطة النباتات أو قد تؤثر على النواحى البيوكيميائية لها . لقد أشار (2006) . Schmelz et al إلى إنطلاق المركبات المتطايرة المحفزة فى بادرات الفاصوليا التى تغذت عليها ديدان الدودة القارضة . ولو أن Volicihin و N – لينولنيويل –L- جلوتامين وجدت فى قىء هذه اليرقات فإنها فشلت فى تنشيط أى استجابة بشكل ملحوظ . أدت هذه النتيجة إلى اكتشاف Inceptin وهو محفز ببتيدى جديد فى المواد المتطايرة من البسلة من قىء الدودة القارضة . عندما تغذت اليرقة على النبات فإن FACs والإنزيمات وغيرها من المركبات الناتجة من اليرقات الأخرى وكذلك المركبات المشتقة من النباتات والتى لم تعرف بعدما أصبحت تلعب دوراً ولها تأثيراً كبيراً على استجابة النبات . هذه العوامل قد تختلف بشكل كبير بين أنواع يرقات حرشفية الأجنحة المختلفة وهذا التباين وبدون شك تمثل بعض من تنوع استجابات النباتات على الأقل بما فيها الاختلافات الملحوظة فى مخاليط المواد المتطايرة المنبعثة . أظهرت الأدلة الحديثة أن الجلوكوز اكسيديز (GOX) تحدث بتركيزات عالية فى لعاب حشرة H.Zea عما هو الحال مع H.Virescens وهذا قد يؤثر على التخليق الحيوى المحفز بمركب FAC

للمركبات العضوية المتطايرة فى النباتات . أكسدة الجلوكوز فى النباتات بواسطة GOX اللعابى فى حشرة H.Zea تؤدى إلى زيادة فى حامض الجلوكونيك وكذلك فى فوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 وهو المركب الذى يوجه الزيادة فى حامض السلسيليك الحر SA والاثيلين . لقد أتضح أن الاثيلين يغير الانبعاث المحفز للمواد المتطايرة ولذلك فإن المستويات العالية من نشاط إنزيم GOX فى لعاب H.Zea مما يفسر جزيئاً كيف أن التغذية عليها تنشط النباتات لإنتاج مخاليط من المواد المتطايرة التى تختلف عن تلك التى حفزت بواسطة تغذية H.Virescens لذلك ولو أن المحفزات FAC تعتبر عوامل محددة فإنه فى النهاية فإن كل الوسائط للتداخلات بين النبات والحشرة يجب أن تفعل وتأثيراتها المحددة على المواد البيوكيميائية النباتية والتعبير الجينى تحدد قبل أن يحدث الفهم الكامل لهذه التداخلات .

عند الأخذ فى الاعتبار كفاءة بعض مركبات FACs كمحفزات فى الانبعاثات المتطايرة فى النباتات ومن ثم تجذب الأعداء الطبيعية لليرقات ولذلك برزت أسئلة فى حاجة إلى الإجابة : لماذا تقوم اليرقات بتجهيز FAC على الإطلاق . لقد خلص الباحثون أن FAC 's تعمل ببساطة كمواد ذات نشط سطحى أو مواد مساعدة على الاستحلاب Emulsifiars فى معدة اليرقات (Spiteller et al. 2000) . هذا ولو أنه من غير الواضح لماذا تقوم اليرقات على وجه الخصوص بتخليق مركب N- لينولينويل -L- جلوتامين عندما تكون الأحماض الأمينية الأخرى أو الأحماض الدهنية بقدرة عالية مواد FAC ذات نشاط سطحى مناسبة Surfactarts دون تحفيز استجابة دفاعية فى النباتات . من الواضح FAC المعتمد على الجلوتامين / جلوتامين وكذلك تعتمد على حامض اللينولينك يجب أن تلعب دوراً محدداً فى تمثيل اليرقات أو الفسيولوجى والتى حدث فيها إزالة خلال النشوء . من المثير للاهتمام ملاحظة أن حامض اللينولينك والجلوتامين الغذائى كلاهما ضرورى لبقاء معظم يرقات حرشفية الأجنحة . اليرقات تستطيع إنتاج الأحماض الدهنية Eicosanoid من الأحماض الدهنية عديدة التشبع الخارجية ذات ذرات الكربون الثمانية عشرة (PUFAs) مثل حامض اللينولينيك . هذه المركبات PUFAs ذات الكربون العشرون ذات مكونات تركيبية محددة للأغشية الخلوية وتحت الخلوية كما أن نواتج تمثيل الايكوسانويد نشطة بيولوجياً كمصادر للإشارات وجزيئات تنظيمية .

حديثاً أوضح الباحثان De Moraes and Mescher (2004) اهتمامات مختلفة فى تركيب FAC للإفرازات الفمية ليرقات H.subflexa التى تغذت على ثمار عوائلها النباتية Physalis and ulata واليرقات المرافقة التى تغذت على أوراق نفس النوع النباتى . الثمار تعانى من عدم وجود كمية يمكن تقديرها من حامض لينولينك واليرقات التى تغذت على الثمار لم تنتج كميات يمكن الكشف عنها من الفوليستين و N- لينولينويل

-L- جلوتامين بينما تلك التى تغذت على أوراق نفس النبات التى لا تحتوى على حامض لينولينيك أنتجت كلا هذين المحفزين FAC . لذلك فإن تركيب مخلوط FAC بشدة بواسطة غذاء اليرقات وهذا يتوافق مع البحث الذى خلص إلى أن شق الحامض الدهنى لمحفزات FAC تشتق من الغذاء الذى تتغذى عليه اليرقات (Pare et al. 1998) . الأصل لشقوق الحمض الدهنى والحمض الأمينى لمحفزات المركبات FAC قدرت بواسطة تغذية يرقات الدودة القارضة S. exigua على بادرات الذرة المعلمة إشعاعياً بواسطة الكربون ^{13}C ونموها فى جو من ثانى أكسيد الكربون $^{13}CO_2$. لقد وجد أن الفوليستين فى الافرازات الفمية من اليرقات التى تغذت على البادرات المعلمة إشعاعياً تخلق بواسطة الحشرة عن طريق إضافة مجموعة ايدروكسيل وجلوتامين لحمض اللينولينيك الذى تحصل عليه مباشرة من النبات الذى تغذت عليه . بينما بادىء الحمض الدهنى للفوليستين مشتق من النبات فإن المنتج النشط حيوياً يتكون بوجه خاص وحصريا فى اليرقة . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بان هذه الجزيئات تلعب دوراً هاماً ولو أنه ليس معروفاً بعد سواء فى عمليات التمثيل أو غيرها والحرجة فى حياة الحشرات ملتهمة النباتات .

لقد أقترح أن واحد من الأنواع العديدة من البكتريا توجد فى معدة اليرقات وقد تكون مسئولة عن تخليق FACs . فى الحقيقة أتضح أن هذه الكائنات الدقيقة قادرة على اقتران ١٢- فينيل دوديكانويك آسيد مع الجلوتامين فى الخارج وقد تلعب دوراً فى تخليق أميدات الحامض الدهنى بوجه عام . هذا ولو أن معدل التخليق الحيوى كان متناهى فى القلة حيث ينتج فقط كمية صغيرة من N- ١٢ - فينيل دوديكانويل جلوتامين خلال ساعات قليلة وتتطلب أيام لزيادة الكميات بدرجة كبيرة (Spiteller et al. 2000) . لقد تمت الإشارة أن N- لينولينويل - L - جلوتامين خلقت بواسطة قليل من البكتريا التى عزلت من قىء الدودة القارضة ولو أنه لا توجد بيانات تشير إلى معدل التخليق الحيوى أو الكميات المنتجة. هذا ولو أن المعدل القليل (أطول من ٢٤ ساعة) للتخليق الحيوى البكتيرى للفوليستين لا يمكن أن يمثل التخليق الحيوى السريع المطلوب لتراكم المحفز . معدل التخليق الحيوى يحتاج أن يكون عالياً بما فيه الكفاية للتغلب أو تجنب التحليل المائى التلقائى أو الفورى الانزيمى لمركب FAC السريع نسبياً (أقل من ٨ ساعات) الأصيل وراثيا لجدار المعدة وقىء يرقات حرشفية الأجنحة (Mori et al. 2001) . جميع المحاولات التى أجريت لتخليق N- لينولينويل - L - جلوتامين باستخدام المزارع البكتيرية المشتقة من قىء يرقة الدودة القارضة ومهروس النسيج لم تسفر عن دليل يعضد دور البكتريا فى التخليق الحيوى لمركب FAC .

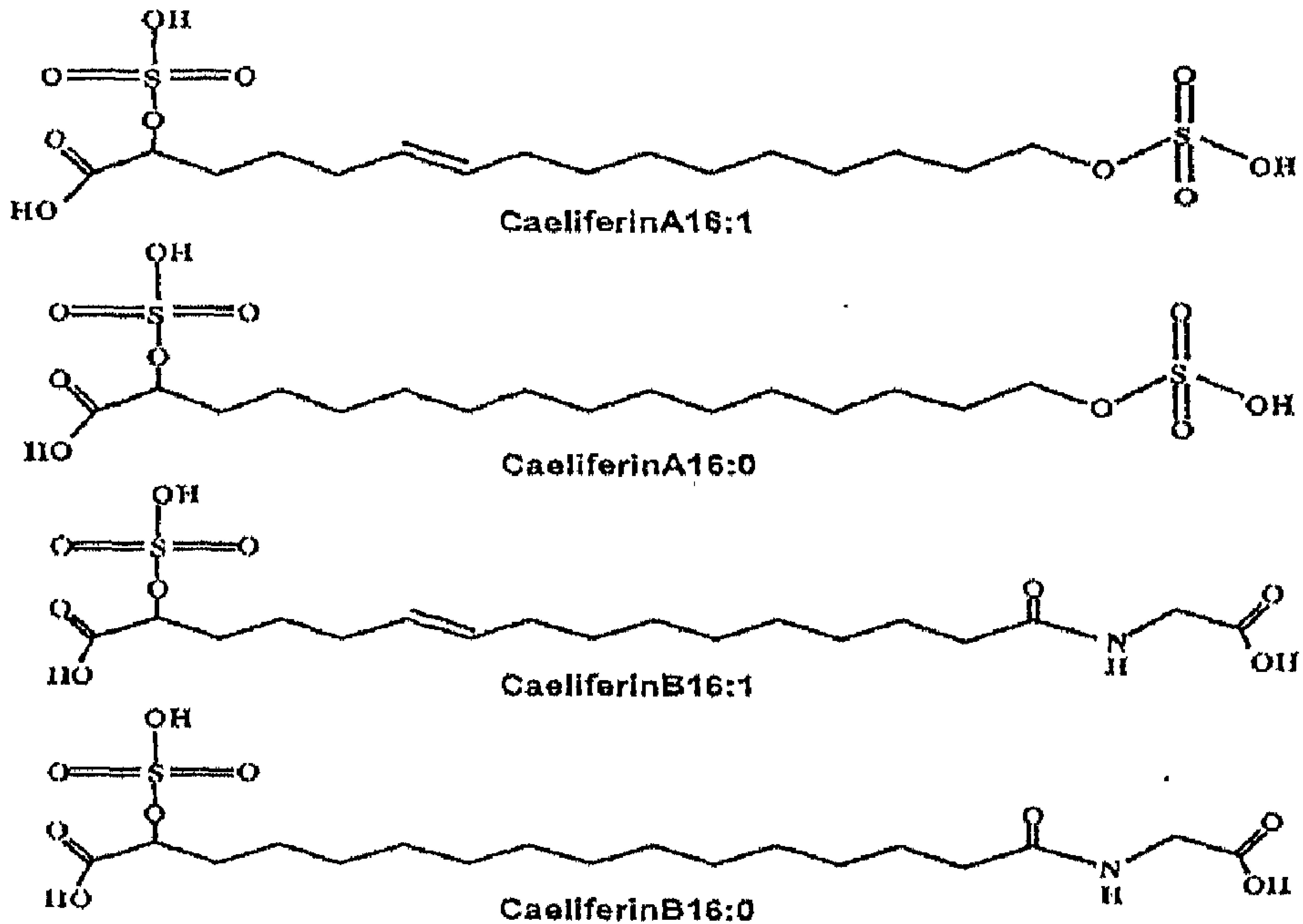
فى أنواع حشرات حرشفية الأجنحة أجريت العديد من الدراسات وأتضح منها أن FAC تنتج بواسطة الإنزيمات المغروسة فى الغشاء الموجودة فى المحصول وأنسجة

المعى الأوسط الأمامية لليرقات (Tumliason and Lait 2005) . حيث أن المحصول بالضرورة امتداد للتجويف الفمى يبدو أن المحفزات التى تنتج فى المحصول تحجب بطريقة ما خلال عملية التغذية كى تلامس أنسجة الورقة التى تلفت بواسطة تغذية اليرقات. فى الحقيقة فإنه ومن خلال دراسة حديثة حيث تم السماح ليرقات الدودة القارضة بالتغذية على بادرات الذرة المعلمة إشعاعياً على ذرة الكربون ^{14}C ثم نقلت لبادرات غير معلمة فإن حوالى ١٠٠ Pmol من الفوليستين لكل يرقة تم استخلاصها من الأوراق التالفة بعد ٩ ساعات من التغذية . هذه الدراسة أكدت أن FACs تستخدم لإتلاف أنسجة الورقة بواسطة اليرقة التى تتغذى عليها ولكنها لا تعمل كرسل متحركة داخل النبات لتوجيه الانبعاث الجهازى للمركبات العضوية المتطايرة .

ولو أنه مازالت هناك حاجة لمزيد من الدراسات والعمل للفهم الكامل لدور FACs فى التداخلات بين النبات والحشرة فإنه من الواضح أنها تلعب دوراً هاماً ولو أنه غير محدد تماماً فى تمثيل يرقات حرشفية الأجنحة . بالإضافة إلى ذلك فإنها نشيطة فى تحفيز التخليق الحيوى فى بعض وليس فى كل النباتات . يتبقى معرفة كيف يعبر النشاط بشكل عريض نطاق العائلات والأنواع النباتية وما إذا كانت الأنشطة النسبية لمركبات FACs المختلفة تتفاوت فيما بين أنواع النباتات المختلفة .

٢-٢- محفزات الكاليفيرينات من نطاطات الأوراق

لقد تم عزل قسم جديد من المحفزات النباتية المتطايرة التى تنتج بواسطة الحشرات آكلة الأوراق وتم تعريفها من الإفرازات الفمية لأنواع نطاطات الأوراق Shistocerca



americama (Alborn et al. 2007) . بعد ذلك وجدت فقط فى تحت رتبة مستقيمة الأجنحة Caelifera ومن ثم أطلق عليها الاسم كاليفيرنيات Caeliferins . بينما التركيب الأساسى للكاليفيرينات هو الحمض الدهنى فإن الاختلافات التركيبية للكاليفيرينات عن FACs مؤكدة وكبيرة جداً (الشكل ١٠-٤) . سلسلة الحمض الدهنى كاليفيرين تتفاوت فى الطول من ١٥ وحتى ١٩ ذرة كربون ومن ثم اكتشفت كاليفيرينات فقط مشبعة ووحيدة عدم التشبع . كاليفيرين A به هيدروكسيلات مكبرتة على ذرات الكربون $ و w لسلسلة الحمض الدهنى بينما جزيئات الكاليفيرين B عبارة عن أحماض ثنائية مهدركسلة – oc مع مقترن w – كربوكسيل للجلايسين مشابهة لمركبات FACs . بالإضافة إلى ذلك وجد أن الافرازات الفمية لنطاط الأوراق تحتوى على سلاسل من المركبات من كل نوع مع أطوال سلاسل تتفاوت من ١٥ وحتى ١٩ ذرة كربون ولكن فى الدودة القارضة وجد أن مركبات ذات ١٦ ذرة كربون هى الأكثر وفرة فى كل قسم (الشكل ١٠-٤) .

شكل (١٠-٤) : تراكيب الكاليفيرينات ذات ١٦ ذرة الكربون المعزولة من والمعرفة من قىء حشرة النطاط S. americana . المكون الأكثر وفرة فى قىء هذه اليرقات هو الكاليفيرين A 16 : 0 . المحفز الأكثر نشاطاً للمركبات المتطايرة VOC من بادرات الذرة هو الكاليفيرين A 16 : 1 .

عزل وتنقية الكاليفيرنيات النشطة تم استكشافه مع التقييم الحيوى للمواد المتطايرة لبادرات الذرة . الكاليفيرين A 16 : 1 أكثر فعالية فى تحضير انبعاث VOC بين الكاليفيرين A 16 : 0 والكاليفيرين B 16 : 0 أقل فاعلية . المركبات الأخرى فى هذه العائلة تتضمن الكاليفيرين A 17 : 0 , 18 : 0 يبدو أنها ذات مستويات منخفضة من النشاط على بادرات الذرة . النشاط الحيوى للكاليفيرينات على الأنواع النباتية الأخرى لم تختبر بعد . إذا أخذ فى الاعتبار طبيعة تعدد الالتهام فى نطاطات الأوراق وحدوث الكاليفيرينات فى جميع أنواع النطاطات التى درست نشعر بالدهشة إذا علمنا أن هذه المركبات ذات طيف عريض من النشاط عبر مدى من الأنواع النباتية . كذلك لا يعرف ما إذا كانت المركبات المتطايرة المنبعثة بواسطة النباتات وفيها النطاطات التى تغذت عليها تجذب الأعداء الطبيعية للنطاطات وإذا حدث ذلك نتساءل عن تأثير المواد المتطايرة المحفزة – مع جذب الأعداء الطبيعية على مجموعة نطاطات الأوراق . هناك إمكانية بديلة بأن المواد المتطايرة التى تحفز بواسطة النطاطات لكل تغذية تجذب أفراد أخرى من النوع وهذا يساعد فى تجمع حشرات النطاطات .

فى حشرات حرشفية الأجنحة فإن شق الحمض الدهنى لمركبات FAC تحصل عليه من النبات أو الغذاء التى تغذت عليه اليرقة والإنزيمات فى المحصول والمعى الأوسط تربط الأحماض الدهنية بالجلوتامين . أصل شق الحمض الدهنى فى الكاليفيرينات فى

نطاطات الأوراق لم تتضح بعد . لقد أشار Alborn et al. 2007 أن القيء من نطاطات الأوراق المجموعة من الحقل تختلف فى التركيب عن تلك فى الحشرات المرباة فى المعمل. هذا ولو أن الحشرات البرية أحضرت إلى المعمل فإن التركيب تغير فى اتجاه الحيوانات المرباه فى المعمل خلال أسبوع بصرف النظر عن الغذاء الذى قدم لها . ما إذا كانت هذه التغيرات ترجع إلى تغيرات غير معروفة فى الغذاء أو العوامل الأخرى مثل الزحام مازالت غير معروفة . حيث أن الكاليفيرينات المعروفة ذات أطوال سلاسل من ١٥ وحتى ١٩ ذرة كربون بما فيها السلاسل مع عدد شاذ من ذرات الكربون وحيث أن الرابطة الزوجية فى السلسلة " ترانس " فإنه يبدو أن هذه المركبات تشتق مباشرة من الأحماض الدهنية النباتية .

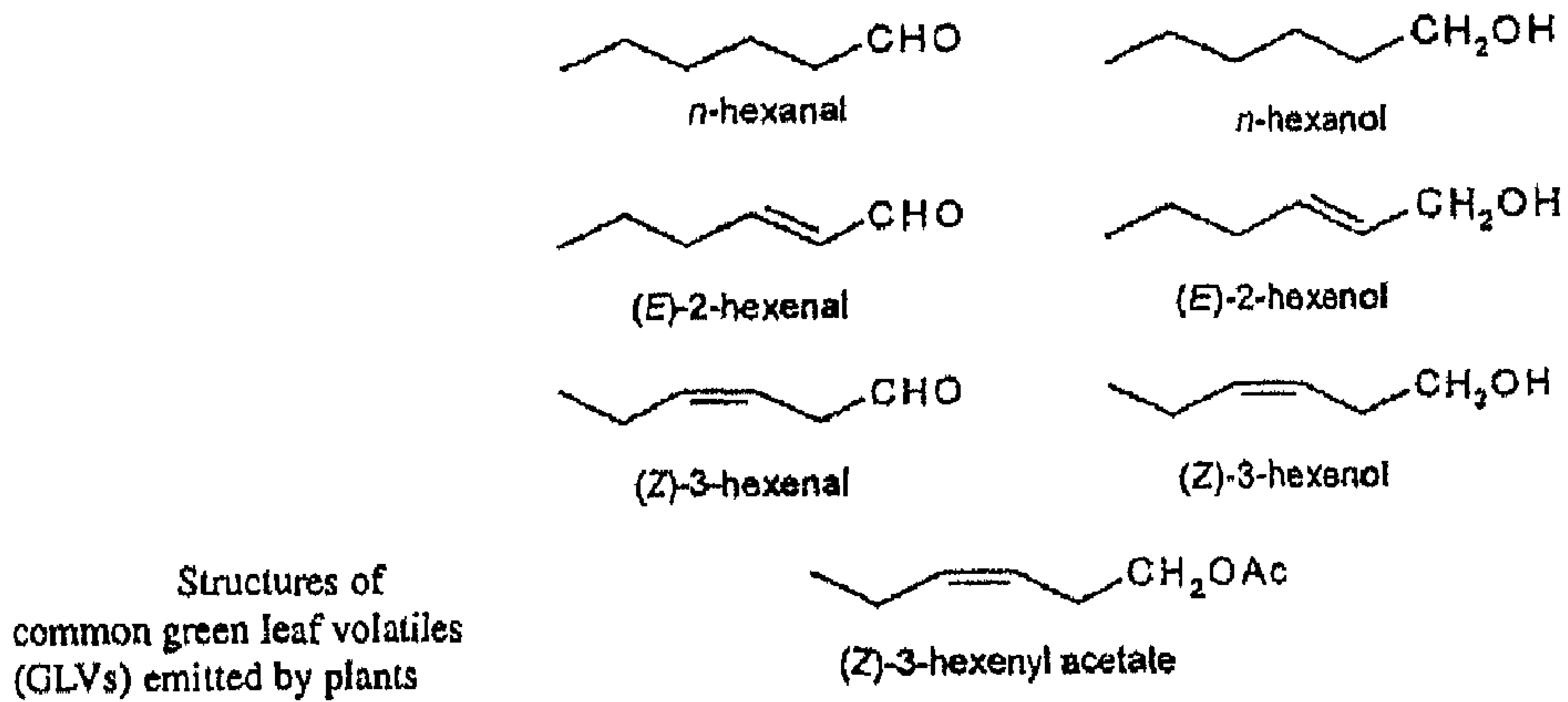
كما هو الحال مع المحفزات FAC تبرز الأسئلة عن أى وظيفة تقوم بها هذه المركبات فى نطاطات الأوراق . هذه المركبات قد تلعب دوراً فى الهضم حيث أن الكحولات المكبرتة والمسلفنة والأحماض الدهنية معروف عنها أنها مواد ذات نشاط سطحى ومواد مساعدة على الاستحلاب جيدة . كذلك فإن النطاطات تنتج كميات كبيرة من بصاق أو بسود خفيف عند تداولها أو تشويشها ويعتقد أن ذلك يعمل كميكانيكية دفاع . لقد ذكرت العديد من التقارير إلى أهمية مركبات العائل النباتى فى كفاءة دفاع بصاق النطاطات وأن هذه المركبات غير المعروف ذوبانها فى الماء لها نشاط طارد ضد الأعداء الطبيعية (Ortego et al. 1997) . خصائص الاستحلاب للكاليفيرينات ذات أهمية فى السماح للبصاق المائى لحمل المركبات السامة المحبة للدهون .

أظهرت الدلائل الأولية أن بصاق العديد إن لم تكن كل أنواع النطاطات فى تحت رتبة الكاليفيرا تحتوى كميات كبيرة عن واحد أو أكثر من الكاليفيرنيات . لذلك فإن هذه المركبات لها بعض الأهمية فى فسيولوجيا و / أو سلوك هذه المجموعة من الحشرات ولكن وظائفها مازالت فى حاجة للتحديد .

٣- المواد المتطايرة فى الأوراق الخضراء

خليط المواد المتطايرة المحفزة يعتمد على آكل الأوراق ونوع النبات . هذا ولو أن المكونات الكبرى لهذه الباقات هى التربينات الأحادية والعديدة وكذلك المواد المتطايرة للأوراق الخضراء (GLV's) . بينما معظم المواد المتطايرة تعمل كإشارات فى التداخلات ثلاثية الأغذية فإن البعض يبدو أن له وظيفة أو وظائف مباشرة أكثر فى استجابة الدفاعات النباتية . فى هذا المقام فإن GLVs برزت كقسم من المركبات والتى يبدو الآن أنها تلعب أدواراً هامة فى استراتيجيات الدفاع النباتية المتنوعة . عندما تم توصيف GLVs لأول مرة فى القرن الماضى نظر إليها على أنها تحويله من مسار يؤدى إلى تروماثين Traumatin وهو أول هورمون جرح وصف فى النباتات . لقد تأخرت هذه

الرؤية والآن أصبح مسار التخليق الحيوى لإنتاج GLV مفهوم جيداً (Matsui 2006) . GIVs عبارة عن مركبات مشتقة من الحامض الدهنى تكون من أحماض لينولينيك واللينوليك والتى تعمل كمواد وسيطة لمسار ١٣- ليبوكسى جينيز الخاص . الناتج الحمضى الدهنى ك ١٨ - ١٣ - هيدروبيروكسى ينقسم حينئذ بواسطة إنزيم هيدروبيروكسيدلييز (HPL) منتجاً (Z) -٣- هكسينال (من الأحماض الدهنية ١٨ : ٣) أو الهكسانال (من الأحماض الدهنية ١٨ : ٢) وكذلك على صورة ١٢- أوكسو - (Z) - ٩ - ديكينويك آسيد . العمليات الإضافية للمركب (Z) -٣- هكسانال بواسطة إنزيم الكحول ديهيدروجينيز والأستلة والمشابهات تؤدى إلى إنتاج المكونات الباقية ذات ذرات الكربون الستة مثل (Z) -٣- هكسينول ، Z -٣- هكسينيل آسيتات والمقابل (E) -٢- المشابهات (الشكل ١٠-٥) . حديثاً قام D' Auria et al. (2007) بتوصيف إنزيم BAPH أسيتيل ترانسفيريز فى نباتات الأرابيدوبسيس وهى المسئولة عن أستلة (Z) - ٣- هكسينول . GLVs فى الغالب تنطلق موضعياً بعد حدوث الجرح (Hatanaka 1993) ولكنها يمكن أن تنتج وتنطلق جهازياً كذلك استجابة للضرر بواسطة آكلات الأوراق . إلى جانب ارتباطها بالأنسجة الخضرية فإن GLVs تعتبر مكونات كبرى للمواد المتطايرة التى تطلق بواسطة الأزهار والثمار .



شكل (١٠-٥) : تراكيب المواد المتطايرة من الأوراق الخضراء (GLVs) المنبعثة من النباتات

٣-١- GLVs ودفاع النبات

الوظائف المتنوعة لمركبات GLVs فى دفاعات النبات تتضمن التأثيرات المباشرة عند هجوم الممرضات وآكلات النباتات وكذلك كأدوار وكإشارات متطايرة وداخل النباتات. أظهرت الدراسات الحديثة أن GLVs تعمل كمضادات بكتيرية ووسائل مضادة

للفطريات سواء مباشرة أو من خلال تحفيز الفيتوالكسينات (Metsui 2006) . كمثال أوضح (2005) Prost et al. أن -2- (E) , (Z) -3 Aexanal مثبطات نمو فعالة لبعض الممرضات النباتية . كذلك أتضح فى دراسة (2006) Shiojiri et al . أن GLVs تؤثر على الممرض النباتى بوتراتيس سينيريا عن طريق خفض معدل نموه على نباتات الأرابيدوبسيس . بالإضافة إلى ذلك أتضح أن GLVs تؤثر على أداء حشرة المنّ . لقد وجد أن الالدهيدات ذات الستة ذرات الكربون لها تأثير مباشر على خصوبة المنّ وكيمياء الورقة النباتية . من جهة أخرى فإن التحولات ذات الستة ذرات الكربون لا تؤثر على حشرات المنّ مباشرة ولكنها تسبب تغيرات فى التركيب الكيميائى للأوراق . لقد تأكدت هذه النتائج بواسطة (2001) Vancanneyl et al. اللذين استخدموا نباتات بطاطس متحولة وراثيا فى HPL لدراسة تأثير GLVs على أداء المنّ .

بالإضافة إلى التأثيرات على الكائنات الدقيقة والمنّ فإن GLVs تلعب دوراً كبيراً فى الإشارات نبات – نبات . الاتصال بين النباتات خلال انبعاث بعض المواد المتطايرة وصفت أولاً بواسطة الباحث (1983) Rhoades . لقد وجد هذا الباحث وغيره كلا مستقلاً عن الآخر أن النباتات المعرضة للمواد المتطايرة المنبعثة من النباتات التى اضيرت ميكانيكياً أقل جذباً لآكلات النباتات الحشرية . بعد ذلك أوضح Arimura et al. (2000) التأكيد ولأول مرة أن المواد المتطايرة من النباتات المصابة بآكلات الأوراق تقوم بالتأشير لتحفيز الجينات المرتبطة بالدفاع فى النباتات المجاورة غير المصابة . من بين المواد المتطايرة التى تحفز جينات الدفاع بعض التربينويدز و GLVs . مركبات GLVs التى استخدمت ككيميائيات نقية تأكد دورها فى تحفيز الجينات المرتبطة بالمقاومة فى نباتات الأرابيدوبسيس . مقدرة GLVs على تحفيز إنتاج المواد المتطايرة حتى فى الأوراق الجهازية تمت الإشارة إليها فى البداية بواسطة (2002) Farag and Pare فى الطماطم . فى النهاية وفى عام ٢٠٠٥ أوضح Ruther and Kleier أن GLVs عندما استخدمت مع الايثلين والذى ينبعث هو أيضاً بمجرد هجوم آكلات الأوراق يحفز انبعاث مخلوط المواد المتطايرة بالمقارنة بتلك التى تنطلق استجابة للتلف الواقعى الذى تحدثه الحشرات . بينما توضح هذه الأمثلة مقدرة GLVs للعمل كإشارات فى استجابة النبات الدفاعية فلا يعرف إلا القليل عن مسارات التأشير المشتركة فى العملية . يبدو أن مسار تأشير الأوكتاديكانويد تلعب دوراً هاماً فى هذه العملية . البيانات المتاحة عن التعبير الجينى توضح بوجه عام أن معظم الجينات التى تتأثر بواسطة GLVs تستجيب كذلك لاستخدام حامض الجسمونيك JA . لقد تحصل أخيراً على دليل قوى عن اشتراك الجسمونات فى الاستجابة GLVs حيث أتضح أن طفرات تأشير JA أقل استجابة لمركبات GLVs .

٣-٢- التحضيرية Priming

بينما GLVs تحفز بوضوح التعبير الجينى وانطلاق المواد المتطايرة فى النباتات فإن هذه الاستجابات قد تكون إما غير كاملة أو أقل ظهوراً عما هو الحال عما يحدث عند الهجوم الواقعى لآكلات النباتات أو استخدام حامض الجسمونيك JA . لذلك برز السؤال عما إذا كان أو لم يكن هذا التحفيز الضعيف لجينات الدفاع أو المستويات القليلة من المواد المتطايرة التى تنبعث كافية لإحداث خفض فعال فى التلف من آكلات النباتات الحشرية . للإجابة على هذا السؤال أجرى Engelberth et al. (2004) دراسة مكثفة للوقوف على تأثير معاملة GLVs على آكلات النباتات المتتابعة . بادرات الذرة التى تعرضت لمركبات GLVs استجابت مع تراكم سريع وانتقالى لحمض الجسمونيك تعود ثانية لمستويات الراحة بعد ٢ – ٣ ساعات فقط . تراكم JA كان مصحوباً بانطلاق متوسط جداً من المواد المتطايرة مما يؤكد على مخرجات الدراسات السابقة . فى الحزمة الثانية من التجارب تم اختبار التأثيرات الفسيولوجية للتعرض لمركبات GLVs على التحفيز المتتابع للمحفزات المشتقة من الحشرات . لقد تم تعريض النباتات لمركبات GLVs طول الليل ثم عوملت بالمحفزات فى توقيت عندما وصلت لمستويات JA إلى مستويات الراحة مرة أخرى . هذه النباتات تستجيب للمعاملة بالمحفز بسرعة أكثر وبشدة أكبر بالنظر لتراكم JA وانطلاق المواد المتطايرة بالمقارنة بالنباتات غير المعرضة ولكن بالنباتات المقارنة المعاملة . من المثير للاهتمام أن المعاملة المسبقة بمركبات GLVs أثرت بشكل متخصص على تراكم JA المحفز ولم يكن هناك تأثير على النواحى الأخرى لاستجابات الجروح . لقد كان ذلك أول تناول للتأثير التحضيرى لمركبات GLVs ضد آكلات النباتات الحشرية وقد حجبت الرؤية الجديدة عن الفعل المؤثر لهذه المركبات فى مجتمع النبات . التحضيرية تعنى العملية التى فيها تسرع أو تحفز الاستجابة لبعض التحديات بواسطة تنشيط مسبق وقد تأكدت مع التداخلات بين النبات والممرض (Prime –A– Plant Rroup et al. 2006) فى مجال التداخلات بين النبات والممرض فإن GLVs يبدو أنها تعمل كوسائل تحضيرية بواسطة تجهيز النباتات لمجابهة آكلات النباتات .

منذ الاكتشاف الأول تم تأكيد التأثير التحضيرى لمركبات GLVs فى البيئات الأكثر واقعية بواسطة Kessler et al. (2006) . باستخدام السلسلة الدقيقة الغنية فى جينات الدخان المرتبطة بآكلات النبات الحشرية وجدت استجابات نسخ فى نباتات الدخان البرية النامية فى منطقة المريمية المجزوزة ولم تحدث زيادة فى الدفاعات المباشرة مثل النيكوتين وإنتاج مثبط البروتييز . هذا ولو أنه عندما بدأت يرقات حشرة M.sexta فى التغذية على هذه النباتات التحضيرية حدث إنتاج محفز أسرع لمثبط تربسين البروتينيز . هذه الاستجابة التحضيرية لنباتات الدخان البرى التى تعرضت للمرمرية المجزوزة أدت إلى ضرر قليل لآكلات النباتات وكذلك معدل موت أعلى ليرقات ماندوكا الصغيرة . من بين المركبات

المتطايرة المسئولة عن هذا التأثير التحضيرى مركب hexenal -2- (E) ولكن تتضمن المركبات ميثاكرولين والمثيل جسمونات .

فى دراسة حديثة للباحث Ton et al. (2007) تم دراسة تأثير التحضير بواسطة المواد المتطايرة المحفزة على الدفاعات المباشرة وغير المباشرة فى الذرة على المستوى الجزيئى والكيميائى ومستوى السلوك . باستخدام اختبارات الغربلة بالتهجين المتباين تمكن الباحثون من تعريف عشرة جينات مرتبطة بالدفاع والتى تم تحضيرها بتغذية اليرقات والجرح الميكانيكى واستخدام قىء اليرقات وحمض الجسمونيك JA . التعريض للمواد المتطايرة من النباتات المصابة بآكلات النباتات لم تنشط هذه الجينات مباشرة ولكنها أدت إلى تحضير تحت حزمة منها للتحفيز القوى و / أو المبكر بمجرد تحضير الدفاع تباعاً مما يؤدى إلى خفض الضرر الذى تحدثه آكلات النباتات وتطور اليرقات وزيادة جذب الأعداء الطبيعية لليرقات والدبور المتطفل .

لقد تناولت معظم الدراسات دور إشارات المواد المتطايرة بما فيها GLVs فى الاتصال داخل النبات وأتضح أن نفس المواد المتطايرة تعمل كذلك كإشارات فيما بين النباتات (Karban et al. 2006) . لقد درس هؤلاء البحاث دور المواد المتطايرة فى المقاومة المحفزة بين أفراد نباتات المرمرية (Artemisia tridenteta) وكذلك بين الفروع فى النبات الواحد . نبات المرمرية على غرار العديد من النباتات الصحراوية الأخرى عبارة عن زراعات مقطعية بما لا يسمح بالتبادل الحر للمادة بما فيها مركبات التأشير خلال الاتصالات أو الارتباطات الوعائية ومن ثم التحفيز المنسق للمقاومة ضد آكلات النباتات . بدلاً من ذلك فإن المركبات المتطايرة تستخدم للتغلب على هذه العقبة وأخذ دور الإشارة الجهازية لتجهيز الأجزاء الأخرى من النبات لتحقيق الدفاع الأفضل ضد آكلات النباتات الحشرية . دور مركبات GLVs فى هذه العملية غير واضح حيث لم تختبر كفاءة المواد المتطايرة كل على حدة . تحضير الدفاعات غير المباشرة خلال المواد المتطايرة سجلت مع إنتاج الرحيق فى نباتات فول الليما من الأزهار . افرازات رحيق الأزهار يجذب مفصليات الأرجل آكلة اللحوم مما يسبب زيادة فى ضغط المفترس على آكلات النباتات المهاجمة . فى دراسة حقلية ثم تعريض نباتات فول الليما لمخاليط صناعية من المواد المتطايرة المخلقة . لقد وجد أن هذه النباتات التى تم تحضيرها أولياً بواسطة التعرض للمادة المتطايرة تنتج رحيق أزهار أكثر ثلاث مرات استجابة للضرر الميكانيكى بالمقارنة بالنباتات التى لم تحضر أولياً . لقد أشار الباحثون أن وظيفة إشارات المواد المتطايرة المحفزة بآكلات النباتات ليست محدودة على الإشارات داخل النبات ولكنها تمتد لدور مثل الإشارة الجهازية داخل النبات (Heil and Bueno 2007) كما وصف فى البداية بواسطة Karban et al. (2006) .

بسبب استخدام مخاليط معقدة من المواد المتطايرة فى الدراسات التى أجريت بواسطة العديد من البحاث مثل Karben et al. (2006) , Ton et al. (2007) والتى كانت تحتوى على GLVs بين المركبات المتطايرة التقليدية الأخرى فإنه يجب توضيح ما إذا كان المخلوط كله أو المركبات الفردية مسئولة عن التأثير التحضيرى الأولى . لا يمكن استبعاد أن المكونات الأخرى لمخلوط المواد المتطايرة مثل بعض التربينات يمكن أن تعمل كإشارات فى الاتصالات داخل النبات .

كما ذكر سابقاً فإنه يبدو أن GLVs تنشط مسارات الإشارات المرتبطة بحمض الجسمونيك وإنتاج هذا الحامض المحفز بمركبات GLVs كما ظهر فى بادرات الذرة . لا يعرف الكثير عن مسار تأشير GLVs فى أنواع النباتات الأخرى . هذا ولو أن تنشيط جينات الدفاع التى تعتمد على JA التقليدى تعضد دور مسارات التأشير المرتبطة بحمض الجسمونيك فى عملية التحضير الأولية التى تبدأ بواسطة GLVs . فى الذرة خلص البحاث Engelberth et al. (2007) أن الجينات المسئولة عن التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك تحفز بدرجة كبيرة مما أدى إلى الاقتراح بأن مسار تأشير الأوكتاديكانويك تلعب أدوراً هامة فى العمليات المحفزة بمركبات GLVs .

٤- مسار تأشير أوكتاديكانويد

عندما تهاجم آكلات النبات الحشرية عوائلها النباتية فإن معظم التأثيرات المضادة تؤشر أو تشفر خلال مسار الأوكتاديكانويد مع حمض الجسمونيك JA ومقترنات JA – كإشارات كبرى داخل النبات . شلال إشارات الأوكتاديكانويد يبدأ بواسطة تلف النسيج مؤدياً إلى تكوين حامض ١٢- أوكسو فيتوديونيك آسيد (OPDA) من الأحماض الدهنية عديدة عدم التشبع فى البلاستيدات . الخطوات النهائية فى المسار تحدث فى البيروكسيسمات بواسطة إنزيم ١٢- أوكسو - فيتودانيوات - ١٠ ، ١١ - ريدكتاز (OPR) متبوعاً بثلاثة دورات من الأكسدة بيتا مؤدية إلى تكوين حمض الجسمونيك (Scdaller et al. 2004) .

ولو أن الكثير من الدراسات الأولى عن تأشير الأوكتاديكانويد ركزت على حمض الجسمونيك JA خاصة فيما يتعلق بدوره فى تنشيط جينات الدفاع إلا أنه فى الوقت الحالى أصبح واضحاً أن مسار المواد الوسيطة مثل OPDA و مقترنات – JA تحدث نشاطها المتميز فى النبات . كمثال فإنه أتضح أن OPDA تحفز المحاليق الملفوفة فى نبات Bryonia dioica بدرجة أكثر فاعلية عما هو الحال مع حمض JA ‏(Stelmach et al. 1998) . كذلك فإن OPDA التى تحفز التغيرات فى التعبير الجينى تختلف بشكل واضح عن تلك التى تحدث مع JA . الدليل المباشر عن الأنشطة المتميزة لمركبات OPDA و JA أتى من توصيف الطفرة Opr3 لنبات الأرابيدوبسيس الذى ينقص فى اختزال

OPDA ومن ثم لا يصبح قادراً على تكوين JA . الطفرة تعقم الذكور مما يوضح أن JA مطلوب بشكل ضرورى لتطور الجهاز التناسلى فى الذكور . على العكس فإن استجابات الدفاع التى تعتمد على أوكتاديكانويدز لا تتلف فى الطفرة Opr3 مما يوضح أن OPDA يمكن أن يحل محل JA فى تحفيز تعبير الجين . على غرار JA فإن OPDA ينظم بشكل كبير عند موقع الضرر الميكانيكى ويبدو أن وظيفته لا تعمل كبادىء لحمض الجسمونيك JA ولكنها تلعب دوراً جزيئاً ومستقل فى الاستجابة الفورية للجروح .

فى السنوات الحديثة أصبح من الواضح أن الجرح الميكانيكى قد لا يحاكى جيداً ودائماً ما يحدث مع آكلات النباتات . بينما المكون الطبيعى للضرر الذى تحدثه آكلات النباتات وجدت اختلافات كبيرة تحدث عندما تضار النباتات ميكانيكياً بالمقارنة بالتلف الفعلى الذى يحدث بواسطة آكلات الأوراق . هذه الاختلافات ترجع إلى المحفزات مثل الفوليستين (وغيرها من أميدات الحمض الدهنى) والأنسيثينات والكاليفيرينات وهى مكونات ضرورية لقىء الحشرات المقابلة . لقد وصفت هذه المركبات أولا عندما أظهرت تحليل VOC اختلافات كبيرة بين النباتات التى حدث لها ضرر ميكانيكى فقط وتلك النباتات التى استخدم عليها بصاق اليرقات على موضع الجرح . لقد لوحظت اختلافات نوعية وكمية وقد ترجع إلى عوامل فى سائل القىء . باستخدام المحفزات المنقاة أو المخلقة أوضح Schmelz et al. (2005) أن هذه المحفزات أثرت بشكل كبير على مستويات حمض الجسمونيك وانطلاق المواد المتطايرة VOC . لقد أوضح Engellerth et al. (2007) أنه فى أوراق الذرة لم تزداد مستويات JA الموضعية أو OPDA فقط بعد استخدام المحفز عند المقارنة بما يحدث مع الجرح الميكانيكى ولكن JA البعيد عن موضع استخدام المحفز كذلك حدث له تنظيم فائق دون تأخير محسوس . من المثير للاهتمام أنه بينما يحدث تخفيض كبير موضعى للـ OPDA فإنه لم يتم الكشف عن زيادات فى OPDA فى الأجزاء البعيدة من أوراق الذرة . لقد أدى ذلك إلى الاقتراح بأن التخليق الحيوى لمركبات OPDA , JA تنظم بشكل متباين وأظهرت النتائج الأولية أن OPDA الحرة لا تشترك فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك فى الاستجابة للجرح والتى تعضد دور OPDA كمركب إشارى مستقل . نشاط GLVs تجاه تحفيز حمض JA أضاف إلى قائمة المنشطات التى تتداخل مع مسار تأشير الأوكتاديكانويد . ليس التعرض لمركبات GLVs فقط هى التى تحدث تراكم JA فى بادرات الذرة ولكنها تجهزها كذلك ضد آكلات النبات الحشرية التى يعبر عنها فى الإنتاج الزائد لحمض الجسمونيك وانفراد VOC عندما تحفز مع المحفزات الحشرية . من جهة أخرى لوحظ عدم حدوث تأثير للتحضير بواسطة GLVs على تراكم JA المحفز بالجرح ومستويات JA لم تزداد بعد ذلك بواسطة المعاملة الثانية لمركبات GLVs مما يوضح بعض التخصصية للإشارة GLVs . بالإضافة إلى ذلك فإن حقيقة أن مستويات JA المتزايدة

المحفزة بواسطة GLV لم تكن مصاحبة بزيادة فى OPDA مما يشير إلى تشابه قوى لما لوحظ من تراكم JA فى الأجزاء البعيدة من الورقة بعد استخدام المحفز الحشرى مما أدى إلى الاقتراح بوجود ارتباط بين هاتين الحادثتين . لقد أقترح كذلك أن فى الدورة ذات التنظيم العالى أو فى البادىء المقترن الموجودين فى المسار مما يؤدى إلى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك مما لا يسمح لأى وسيط هو فى المسار بالكشف عنه . لذلك فإن جميع التجارب التى أجريت للكشف عن OPDA أو JA سواء فى صورة ليبيدات أو فى صورة OPDA أو مقترنات الحمض الأمينى لحامض JA فشلت فى الحصول على دليل عن هذا النوع من البادئات .

إلى جانب الزيادة المحفزة لكل من AOC , AOS لمستويات النسخ لهما فإن المركبات GLVs يبدو أنها تعمل كذلك كمنظم كبير لتحفيز جينات ORP فى الذرة . كذلك فإن OPR يزداد نشاطها بشكل كبير بعد ١٥ ساعة من التعرض لمركبات GLVs فى وقت عندما يكون التأثير التحضيرى واضحاً . هذه الزيادة فى النشاط قد ترجع إلى النشاط المعاود العالى عندما يكون هناك تحدى مع المحفزات المشتقة من الحشرات مما يؤدى إلى زيادة وارتفاع مستويات JA عند المقارنة بتحدى مساوى فى النبات غير المعرضة GLVs . بناء على التعريف المتتابع مع At OPR3 , Le OPR3 فإن Zu OPR8 فقط يبدو أنه يميل إلى المشاركة فى التخليق الحيوى لحمض الجسمونيك JA . هذا ولو أن الوظائف الفعلية والتتابعات الفسيولوجية لتحفيز OPR المتميز فى الذرة بواسطة GLVs وغيره من المنشطات مثل الضرر الذى تحدثه آكلات النبات الحشرية أو الجروح الميكانيكية لم تتأكد بعد وأن التوصيف البيوكيميائى لبروتينات OPR على حدة فى الذرة مطلوبة للسماح للوضع الصحيح لمسار الإنزيم المقابل الخاص .

يبدو أن تنشيط مسار أوكتاديكانويد يمثل حادثة التأشير الكبرى فى النباتات بالنظر لآكلات النبات الحشرية . الجروح والمحفزات المشتقة من الحشرات و GLVs تؤثر على هذا المسار بطريق وأسلوب متقدم جداً حيث أن كل منه يحفز استجابة مختلفة بشكل متميز. هذه الاختلافات فى تنظيم هذا المسار يبدو أنها ذات أهمية محددة ليس لفهمنا كيف أن النباتات تتوافق مع بيئتها فقط ولكن بالنظر إلى تطور المستقبل وكذلك استراتيجيات الإدارة المستنيرة للآفات ذات المردودات البيئية .

٥- اتجاهات المستقبل

هناك العديد من الأسئلة المطلوبة لزيادة فهمنا عن الميكانيكيات التى بواسطتها تدافع النباتات عن نفسها ضد هجوم آكلات النباتات . المعلومات التى اكتسبت من البحوث على التداخلات الأساسية البيوكيميائية والبيئية بين النبات / الحشرة قد تمكن من استخدام هذه

الميكانيكيات لزيادة كفاءة النباتات فى الدفاع ضد الآفات الحشرية ومن ثم خلق طرق مؤازرة لإدارة السيطرة على الآفات .

ما إذا كانت الأنواع المختلفة للمحفزات المشتقة من الحشرات فعالة عبر مدى عريض من أنواع النباتات محل تساؤل لم يتم الإجابة عليه بعد . هل بعض أنواع المحفزات نشطة على بعض أنواع النباتات فقط وهل هذه ترتبط بأنواع النباتات والتى تقوم آكلات النباتات بإنتاج هذه المحفزات للتغذية عليها ؟ حتى الآن لا يوجد اتجاه واضح عن هذا النشاط . بالتأكيد توجد نباتات مثل اللوبيا يبدو أنها لا تتفاعل مع محفزات FAC . كذلك فإن النشاط النسبى لمحفزات FAC تم تحديده على بادرات الذرة ولم يجرى على أنواع نباتية أخرى . هل الثوليستين أكثر نشاطاً عن N – لينولينويل – L – جلوتامين والجلوتامات على جميع أنواع النباتات التى تتفاعل مع هذه المركبات ؟ أو هل النشاط النسبى لمركبات FAC's المختلفة تختلف عبر السلسلة العريضة من الأنواع النباتية ؟ . على نفس المنوال هل النشاط النسبى للكاليفيرينات هى نفسها عبر جميع الأنواع النباتية التى تستجيب للمحفزات التى تنتج بواسطة نطاطات الأوراق ؟ . الإجابة على هذه الأسئلة قد تحجب بعض الضوء على السؤال الخاص بالميكانيكية التى بواسطتها تقوم المحفزات بتحفيز دفاعات النباتات . فى هذه الميكانيكية هل هى نفسها مع المحفزات التى تنتج من قبل جميع آكلات الأوراق أو هل هى تختلف مع الأنواع المختلفة من المحفزات .

نفس الأسئلة عن التحضيرية . هل هناك ظاهرة عامة أو هل هى مقيدة لأنواع قليلة ؟ ما هى فاعليته وهل يلعب دوراً مؤثراً فى حماية النباتات من هجوم آكلات الأوراق أو تقلل من ضرر النبات فى النظم البيئية الطبيعية ؟ هل توجد جزيئات تحضيرية أخرى بالإضافة لمركبات GLVs ؟ هل الفاعلية النسبية لجزيئات GLVs المختلفة هى نفسها فى جميع النباتات أو هل تتغير فى أنواع النباتات المختلفة ؟ ما هى الميكانيكية التى تحدث بها التحضيرية ؟ هل تستطيع تطوير طريقة لاستخدام التحضيرية لحماية المحاصيل ضد هجوم الآفات الحشرية ؟

فى النهاية يوجد سؤال : لماذا تقوم آكلات النباتات الحشرية بعمل المحفزات وما هو الدور الذى تلعبه فى فسيولوجيا آكل النبات الحشرى وفى التمثيل أو الدفاع . حيث أن FACs اكتشفت فى مدى عريض من أنواع حشرات حرشفية الأجنحة وحديثاً اكتشفت فى حشرات مستقيمة وذات الجناحين يبدو من الممكن أن تقوم بلعب دور محدد فى هذه الحشرات مثل عمليات الهضم والتمثيل . لقد تم التخطيط للعديد من التجارب لتأكيد هذا الدور بما فيها الدراسات المعلمة إشعاعياً لتحدي عمليات التمثيل التى تشترك فيها محفزات FAC . بالإضافة إلى ذلك فإن الإنزيمات الموجودة فى معدة يرقات حرشفية الأجنحة التى تخلق وتمثل هذه المركبات FACs حيث تم تنقيتها وكلونة الجينات . تجارب تقطيع الجين قد تقدم معلومات للوقوف على أهمية هذه الجزيئات فى الهضم وعمليات التمثيل الأخرى .

References

Alorn HT , Brennan MM, Tumlinson JH (2003) Differential activity and degradation of plant volatile elicitors present in the regurgitant of tobacco hornworm (Monduca sexta) larvae . J Chem Ecol 29 : 1357 – 1372

Baldwin IT , Schultz JC (1983) Rapid changes in tree leaf chemistry induced by damage – evidence for communication between plants . Science 221 : 227 – 279

Curtius T , Franzen H (1911) Aldehyde aus gruenen pflanzenteilen Chem Zentr II : 1142 – 1143

De Moraes CM , Lewis WJ , Pare PW , Alborn HT , Tumlinson JH (1998) Herbivore infested plants selectively attract parasitoids . Nature 393 : 570 – 573

Eichenseer H , Mathews MC , Bi JL , Murphy JB , Felton GW (1999) Salivary glucose oxidase : multifunctional roles for Helicoverpa zea ? Arch Insect Biochem physiol 42 : 99 – 109

Farag MA , Pare PW (2002) C6 – green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato , Phytochemistry 61 : 545 – 554

Heil M, Bueno CS (2007) Within – plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature . proc Natl Acad Sci USA 104 : 5467 – 5472

Kishimoto K, Matsui K, Ozawa R , Takabayashi J (2006) ETR1 – JAR1 – and PAD2 – dependent signaling pathways are involved in C6 – aldehyde – induced defense responses of Arabidopsis . plant Sci 171 : 415 – 423

Lait CG , Alborn HT , Teal Teal PEA , Tumlinson JH (2003) Rapid biosynthesis of N- linolenoyl – L – glutamine , an elicitor of plant volatiles , by membrane associated enzyme (S) in Manduca sexta . proc Nat Acad Sci USA 100 : 7027 – 7032

Mori N , Yoshinaga N, Sawada Y , Fukui M, Shimoda M, Fuijisaki K, Nishida R , Kuwahara Y (2003) Identification odvolicitin – related compounds from the regurgitant of lepidopteran caterpillars , Biosci Biotech Biochem 67 : 1168 – 1171

Ortego F , Evans PH , Bowers WS (1997) Enteric and plant – derived deterrents in regurgitate of American bird grasshopper , Schistocerca americana . J Chem Ecol 23 : 1941 – 1950

Pare PW , Alborn HT , Tumlinson JH (1998) Concerted biosynthesis of an insect elicitor of plant volatiles , proc Natl Acad Sci USA 95 : 13971 – 13975

Reymond P, Weber H, Damond M, Farmer EE (2000) Differential gene expession in response to mechanical wounding and insect feeding in Arabidopsis , plant cell 12 : 707 – 719

Sword GA (2001) Tasty on the outside , but toxic in the midle ; grasshopper regurgitation and host plant – mediated toxicity to a vertebrate predator . Oecologia 128 : 416 – 421

Taki N , Sasaki – Sedimoto Y , Obayashi T , Kikuta A , Kobayashi K, Ainai T, Yagi K, Sakurai N, Suzuki H , Masuda T , Takamiya K, Shibata D, Kobayashi Y , Ohta H (2005) 12 – Oxophytodienoic acid triggers expression of a disitnct sef of genes and plays a role in woundinduced gene exprssion in Arabidopsis , plant physiol 139 : 1268 – 1283

Wei JN , Zhu JW , Kang L (2006) Volatiles released from bean plants in response to agromyzid flies , planta 224 : 279 – 287

Yoshinaga N , Sawada Y , Nishida R , Kuwahara Y , Mori N (2003) Specific incorporation of L – glutamine into volicitin the regurgitant of Spodoptera litura , Biosci Biotechnol Biochem 67 : 2655 - 2657

ثالثاً : الأدوار الايكولوجية لمركبات التربين المتطايرة من الأجزاء الخضرية

Ecological Roles of Vegetative Terpene Volatiles Jorg Degenhardt

بسبب العدد الضخم والتنوع التركيبي الكبير تسود التربينات معظم مخاليط المواد المتطايرة فى النباتات . لقد أتضح أن التربينات تعول التداخلات بين النباتات والعديد من الكائنات الحية بما فيها مفصليات الأرجل والنيماتودا وغيرها من النباتات . فى الغالب فإن هذه التداخلات تبنى على التربينات الأحادية والعديدة المتطايرة والتى تنطلق من النبات من هجوم آكلات الأوراق . التربينات تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات الأوراق التى تهاجم آكلات النباتات ومن ثم تخفض من الضرر على النبات . يطلق على هذا التداخل " الدفاع غير المباشر " وهو فى الغالب يفيد النبات ولكن الكائنات الأخرى مثل النباتات المتطفلة والحشرات تستطيع استخدام الإشارات المتطايرة لمميزاتها . بالرغم من العدد القليل نسبياً من التداخلات التى تعول التربينات المتطايرة حيث تم تعريفها فى الوقت الحالى وقد اكتشف العديد منها مع تقدم طرق جمع المواد المتطورة والطرق الجزيئية .

J. Degenhardt

Department of Biochemistry , Max Plnck Insitute for Chemical Ecology , D – 07745 Jena , Germany

e-mail : degenhardt@ice.mpg.de

A. Schaller (ed.), Induced plant Resistance to Herbivory , © Springer Science + Business Media B.V. 2008

١ – مقدمة

التربينات تكون المجموعة الأكبر من المركبات المتطايرة فيما بين المنتجات الطبيعية للنباتات . العديد من التربينات ٣٠٠٠٠ خاصة التربينات الأحادية والعديدة والتربينات غير المنتظمة ذات الوزن الجزيئى المنخفض لها ضغوط بخارية عالية (Connoly and Hill , 1991) . الضغط البخارى العالى يؤدى إلى انبعاث هذه المركبات من النبات إلى البيئة . ولو أن تطاير التربين من الأزهار عرف منذ سنوات عديدة فإن هذه المركبات تنبعث كذلك من الأنسجة الخضرية للنباتات . التحليل التفصيلى لنظم الانبعاث فى النباتات أظهر أن معظم الأنسجة تنتج مخاليط خاصة من التربينات كما هو الحال مع نباتات الارابيدوبسيس والذرة . بعض من هذه التربينات تنبعث من أعضاء خاصة لتخزين

التربينات وكمثال الأشواك الغدية للنعناع وقنوات الراتنج فى أشجار البلوط ولكن العديد من المواد المتطايرة لا تنطلق من مواقع التخزين ذات التركيب التشريحى الخاص . منذ ما لا يقل عن حقبتان زمنيتان مضت أتضح أن المواد المتطايرة المنبعثة من النباتات بعد الضرر الذى تحدثه آكلات الأوراق تستطيع جذب الأعداء الطبيعية لآكلات النباتات (Dicke et al. 1990) تحت الظروف البيئية المناسبة فإن جذب الأعداء الطبيعية تستطيع تحجيم الضرر من آكلات النباتات على النبات المصاب فى هذا المقام نركز على إشارات التربين المتطاير من الأنسجة النباتية الخضراء ودورها فى دفاع النبات ضد آكلات الأوراق .

٢- التربينات كإشارات نباتية متطايرة

على خلاف الإشارات المشتقة من الحمض الدهنى والمواد المتطايرة العضوية فإن التربينات تنبعث بوجه عام فى المخاليط المعقدة مع تنوع تركيبى عريض بين المركبات . المسئول عن معظم التنوع فى التربينات تتمثل فى الإنزيمات المتعددة التى تعمل على التربينات العديدة وهى الإنزيمات الفاتحة للتخليق الحيوى للتربينات . إنزيمات التربين سينسيزيس تستطيع إنتاج مخاليط تحتوى على ما يزيد عن ٥٠ من المركبات من وسيط واحد وتكون مخاليط بنسب معروفة نسبياً من المنتجات (Steele et al. 1988) . بالنظر للكائنات الأخرى فإن هذه المخاليط تقدم إشارة أكثر تخصصاً عن الإشارات التى تكون التربينات منفردة .

بينما تنتج تركيزات منخفضة من التربينات المتطايرة فى معظم بل كل نسيج نباتى فإن التركيزات الأعلى من التربينات من الأنسجة الخضرية تنتج استجابة للإشارات البيئية. انطلاق التربين يزداد استجابة للتلف والتلامس مع محفزات آكلات النباتات والعوامل اللا حيوية مثل الجروح والحالة الغذائية للنبات وكذلك درجة الحرارة والضوء . على عكس العديد من مركبات مسار الليبوكسيجنيز فإن التربينات تنطلق عادة بعد التخليق الجديد متضمنة نسخ للجين وخلال وقت يتراوح من ساعة وحتى ساعتان بعد التحفيز (Turlings et al. 1998) .

بالرغم من العدد المهول من التربينات التى تنطلق بواسطة النباتات فإن عدد قليل نسبياً من التربينات تم تعريفها كإشارات بين الكائنات حتى الآن . فى هذا المقام سوف نتناول بعض من هذه التداخلات التى تتضمن التربينات المتطايرة كما سنتناقش المشاكل المرتبطة بدراسة التداخلات التى تعول التربين .

٢-١- التداخلات ثلاثية التغذية للنباتات مع آكلات الأوراق والأعداء الطبيعية لها

منذ ما يقرب من عقدين من الزمان لاحظ العلماء والباحثون فى كل من هولندا والولايات المتحدة الأمريكية لأول مرة أن الضرر الذى تحدثه آكلات الأوراق على بعض

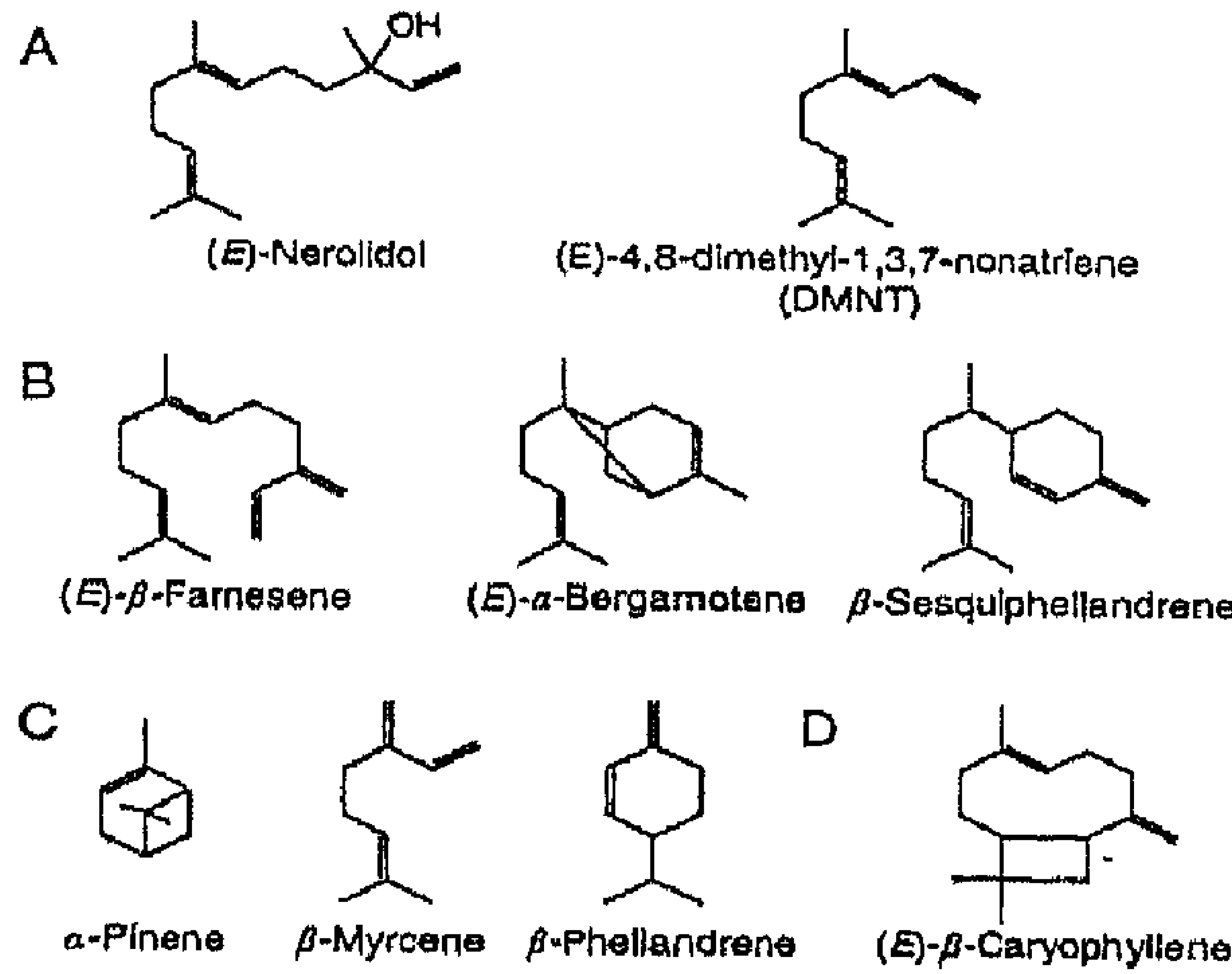
النباتات يحفز انطلاق المركبات العضوية المتطايرة التى تجذب الأعداء الطبيعية لآكلات الأوراق (Dicke et al . 1990) . لقد ذكرت هذه الظاهرة فى أكثر من ١٥ نوع نباتى مختلف بعد التغذية بواسطة تنوع من مفصليات الأرجل آكلة النباتات وهذا ما أطلق عليه الدفاع غير المباشر . الأعداء الطبيعية لآكلات الأوراق التى تستجيب للمواد المتطايرة من النباتات التالفة من الإصابة بالحشرات بما فيها مفصليات الأرجل آكلة اللحوم وكل المفترسات والمتطفلات . انجذاب الأعدء الطبيعية لآكلات الأوراق يفيد النبات عن طريق خفض مجموع الحشرة وزيادة الكفاءة التناسلية ولو أن هذه الميزة لم تظهر فى جميع الحالات .

لقد درس بالتفصيل انجذاب الأكاروس المفترس فيتوسيليوس بيرسيميليسين إلى نباتات فول الليما المصابة بالعنكبوت الأحمر تترانيكس يورتيكا . لقد استخدمت الاختبارات الشمية لانجذاب مركبات فردية من خليط المعقد المتطاير وأتضح أن الأكاروس المفترس لا ينجذب فقط للمركب العضوى مثيل ساليسيلات ولكنه ينجذب أيضاً إلى كحول فيوليدول. الأرابيدوبسيس المهندسة وراثياً تعبر بشكل مكثف عن إنزيم نيروليدول سينسيز من الفراولة حيث استخدم كمصدر متطاير فى تجارب جهاز الشم أولفاكتومين Olfactometer مع الأكاروس المفترس P. pirsimilis . النباتات التى تطلق نيروليدول التى تحصل عليها بالهندسة الوراثية أكثر جذباً للمفترس من النباتات البرية غير المضارة. بالإضافة إلى الجذب الملازم للمركبات المتطايرة النباتية فإن الأكاروسات المفترسة عندها مقدرة كذلك للارتباط بالرائحة مع وجود العائل . التربين المتجانس (3E , 7E) – ١٢,٨,٤ – ترايمثيل – ٤ – ٣ – ٧ – ١١ – تراديكاتترايين وهو تربين أوليفين غير منتظم به ١٦ ذرة كربون ينطلق من فول الليما استجابة للتغذية بواسطة الأكاروس T.urticac ولا يحدث ذلك مع الكائن غير العائل الدودة القارضة (الشكل ١٠-٦- A) . بعد سلاسل من الخبرات فى غياب ووجود الفريسة فإن الأكاروس المفترس يستخدم التربين المتجانس كدليل على وجود الضحية (De Boer et al. 2004) . المقدرة على تعلم المزاملة توجه الأكاروسات المفترسة للوصول إلى ضحاياها تحت الظروف الطبيعية فى البيئة المعقدة . هذا لا يساعد فقط المفترس للتعرف على النباتات المصابة بالفريسة ولكنه يسمح كذلك بالتكيف عندما تنتقل الفريسة بين العوائل المختلفة خلال الموسم . Drukker et al . (2000)

نباتات الذرة المضارة بيرقات حرشفية الأجنحة مثل دودة ورق القطن تبعث أو تطلق مخلوط معقد من المواد المتطايرة يسود فيها التربينات الأحادية والعديدة (Turlings et al. 1991) . هذه المواد المتطايرة تجذب إناث الدبور المتطفل Cotesia marginiventris التى تستخدم يرقات حرشفية الأجنحة كعوائل . التطفل قد يفيد نباتات الذرة تحت الظروف الملائمة حيث أن اليرقات المتطفل عليها تتغذى أقل ولا تنتج ذرية .

حيث أن أكل النبات يحفز المواد المتطايرة فى الذرة والتى وجد أنها تتكون من خليط معقد من المركبات ولكن من الصعوبة بمكان معرفة أى من هذه المركبات يكون جاذباً للدبور المتطفل . التربينات المتعددة الكبرى لنبات الذرة المحفزة بآكل النباتات ينتج بواسطة إنزيم تربين سينسيز TPS10 والذى يعبر عنه بشدة بعد هجوم حشرات حرشفية الأجنحة . TPS10 تكون bergemotene -#- (E) , farnesene – B - ,(E) وغيرها ايدروكربونات عديدة التربينات المحفزة بآكلات النباتات من الوسيط فارنيسيل دايفوسفات (الشكل ١٠-٦ و Schnee et al. 2006 , B) . التعبير الفائق لإنزيم TPS10 فى نباتات الأرابيدوبسيس يؤدى إلى نباتات تطلق كميات عالية من منتجات YPS10 عديدة التربينات متطابقة لتلك التى تنطلق بواسطة نباتات الذرة . استخدام نباتات الأرابيدوبسيس المهندسة وراثياً كمصادر للرائحة فى تجارب التقييم الحيوى للشم أظهر أن إناث شبيه الطفيل C.marginiventris تتعلم استخدام TPS10 عديدة التربينات لإيجاد عوائلها من حشرات حرشفية الأجنحة بعد التعرض المسبق لهذه المواد المتطايرة فى ارتباط مع العوائل . هذا التحليل المبنى على الجين لمخلوط المواد المتطايرة المحفز بآكلات النباتات أظهرت أن جين منفرد مثل TPS 10 يكون كافياً لإعالة الدفاع غير المباشر لنباتات الذرة ضد هجوم آكلات الأوراق . بالإضافة إلى ذلك فإن تعلم الملازمة يستطيع إحداث تكيف فى أشباه الطفيليات على التغيرات فى مخلوط المواد المتطايرة المحفزة بآكلات النباتات بواسطة الأنواع النباتية وعمر ونسيج النبات والظروف اللا حيوية (Takabeyashi et al. 1994) هذا ولو أن إناث المفترس ينجذب كذلك إلى المخلوط الكامل من المواد المتطايرة فى الذرة دون ملازمة مسبقة مما يوضح أن المخلوط يحتوى على مركبات جاذبة إضافية والتى تحفز الاستجابة . التحليل عن مكونات هذه المواد المتطايرة لم يتمكن من تعريف هذه المركبات بعد . خليط الاستجابات الأصيلة والتى تم تعلمها قد يسمح لهذا الدبور العام المتطفل للوصول إلى مدى عريض من العوائل على الأنواع النباتية المختلفة فى الطبيعة وفى البيئة المعقدة . من المثير للدهشة انبعاث المواد المتطايرة استجابة للضرر من آكلات النباتات حيث أنه لا يفيد نباتات الذرة فقط حيث أن يرقات حشرات حرشفية الأجنحة S.frugiperda تستخدم هذه المواد المتطايرة كإشارة لإيجاد النباتات التى تتغذى عليها

(Carroll et al. 2006) . مطلوب إجراء دراسات إضافية لتحديد ما إذا كانت فائدة إشارة المواد المتطايرة تتفوق على مميزاتها تحت ظروف بيئية خاصة .



. Structures of volatile plant terpenes involved in interactions with other organisms. (A) (*E*)-nerolidol and (*E*)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (DMNT) are used by the predatory mite *P. persimilis* to locate spider mites. (B) (*E*)-β-farnesene, (*E*)-α-bergamotene and (*E*)-β-sesquiphellandrene attract parasitic wasps to maize damaged by lepidopteran larvae. (C) α-pinene, β-myrcene and β-phellandrene attract dodder (*C. pentagona*) to its host plant. (D) (*E*)-β-Caryophyllene guides entomophatogenic nematodes to maize roots damaged by *D. v. virgifera*

شكل (١٠-٦) : تراكيب التربينات النباتية المتطايرة التي تشترك في التداخلات مع الكائنات الأخرى . (A) تستخدم بواسطة الأكاروس المفترس P.persimilis للوصول إلى الأكاروسات الضارة . (B) تجذب الدبابير المتطفلة لنباتات الذرة التي تلفت بواسطة يرقات الدودة القارضة . (C) تجذب العليق إلى النبات العائل . (D) توجه النيماتودا الممرضة للحشرات إلى جذور الذرة المصابة بواسطة D.V. virgifara .

لقد درست وظيفة التربينات كإشارات دفاعية تحت الظروف الحقلية في أنواع الدخان البرية . لقد تمت محاكاة انطلاق التربينات بواسطة استخدام عجينة اللانولين التي تبعث تركيزات فسيولوجية من المونوتربين لينالول وعديدة التربينات (E) – # – بروجاموتين (Kessler and Baldwin 2001) . انبعاث الليناول الخارجي ينقص من معدلات وضع البيض في حشرات حرشفية الأجنحة على نباتات الدخان بينما انطلاق (E) - # - برجاموتين يزيد من معدلات الافتراس بواسطة المفترسات العامة . لقد أدت هذه الملاحظات إلى الحصول على أدلة تشير إلى أن الدفاعات غير المباشرة التي تعتمد على التربينات تخفض من حمل آكل النباتات على النبات في البيئة الطبيعية .

التداخلات التي تعال بالتربين لم تلاحظ فقط استجابة لتلف الأوراق ولكنها لوحظت كذلك استجابة لآكلات النباتات التي تتغذى على الجذور . يرقات خنفساء (دودة جذور الذرة الغربية) هامة كآفة تصيب الذرة . استجابة للتغذية بواسطة اليرقات فإن جذور الذرة

تطلق إشارة تجذب بشدة النيماتودا الممرضة للحشرات (Boff et al. 2001) . الإشارة التى تنطلق بواسطة جذور الذرة تم تعريفها على أنها : (E) – B – caryophllene وهى أوليفين متعدد التربينات (الشكل ١٠-٦ D) . خطوط الذرة فى أمريكا الشمالية لا يطلق (E) –B- ceryophyllene بينما الخطوط الأوربية وأسلاف الذرة البرية Teosinte تفعل ذلك استجابة للإصابة وهجوم D.V. Virgifera أظهرت التجارب الحقلية خمسة مرات أعلى فى معدل العدوى بالنيماتودا بيرقات D.V. Virgifera على صنف الذرة الذى ينتج الإشارة عما هو الحال مع الصنف الذى لا ينتج الإشارة . معاملة التربة بالقرب من الصنف الأخير بواسطة المركب الأصلى (E) –B- caryophy llene تخفض من خروج الحشرات الكاملة لأقل من النصف (Rasmann et al. 2005) .

ليست التغذية فقط ولكن التبويض كذلك فى آكلات الأوراق تحفز انبعاث التربين فى النباتات . ذبابة قش الصنوبر Diprion pini تضع بيضها على أشطاء الصنوبر وجروح سطح الأشواك . المواد المتطايرة التى تبعث استجابة لجذب وضع البيض تجذب الدبور الذى يتطفل على بيض الذبابة . الإشارة التى تجذب الدبور هى عديدى التربينات (E)-B– فارنيسين والتى تميز فقط فى الدمج مع الآخرين حيث تطلق مواد متطايرة من الصنوبر (Mumm et al. 2003) .

٢-٢ – تداخل التربينات المتطايرة النباتية مع فورمونات الحشرات

العديد من أنواع المنّ تطلق فورمون تحذيرى عديد التربينات (E) –B- Farnescene الذى يخفض من خطر الافتراس للأنواع الأخرى من المنّ فى المنطقة سواء عن طريق دفعها للحركة بعيداً أو عن طريق زيادة نسبة الأفراد المجنحة . لتحديد ما إذا كان (E) –B- Farnescene النباتى يحاكى هذه التأثيرات تم خلق نباتات أرابيدوبسيس متحولة وراثياً تعبر بشكل فائق عن إنزيم (E) –B- Farnescene spnthese من Menthex piperigm بواسطة (Beale et al. 2006) .

النباتات المتحولة وراثياً تطلق مستويات عالية من (E) –B- Farnescene وتحفز استجابات التحذير والطرد فى منّ الخوخ وتعطل الاستجابة فى شبيه طفيل المنّ Diaeretiella rapae (Beale et al. 2006) . بالإضافة إلى ذلك فإن (E) –B- Farnescene يجذب مفترسات أكثر وكذلك أشباه الطفيليات وهى من الأعداء الطبيعية للمنّ (Al – Abassi et al. 2000) . لذلك فإن انبعاث هذا الهورمون بعد الإصابة بالمنّ تحقق للنبات دفاعات مباشرة وغير مباشرة . كحول المونوتربين لينالوول لا يعمل كفورمون بمفرده وكذلك يطرد من الخوخ فى التجارب على نباتات الأرابيدوبسيس

المتحولة وراثياً والتى تعبر بشكل كبير عن إنزيم تربين سينسيز من الفراولة (Aharoni et al. 2003) .

٢-٣- التداخلات التى تعال بالتربين بين النباتات

النباتات التى تطلق مواد متطايرة تشجع تمثيل الدفاع فى النباتات المجاورة . العملية تتضمن النسخ الزائد للجينات المرتبطة بالدفاع وتسمح للنبات بالاستجابة أسرع وأكثر عنفوانية ضد هجوم آكلات النباتات (Boldwin et al. 2006) . لقد أتضح أن معظم هذه التداخلات تعتمد على المواد المتطايرة المشتقة من مسار ليبو اكسيجينيز وهو ما يطلق عليه " المواد المتطايرة للورقة الخضراء " . لا يعرف إلا القليل عن دور التربينات فى الابداء والتداخل نبات – نبات . دراسة واحدة فقط على فول الليما اقترحت دوراً للتربينات فى هذا التداخل . عندما هوجمت هذه النباتات بواسطة العنكبوت الأحمر فإن النباتات المجاورة أصبحت أقل حساسية للأكاروسات وأكثر جذباً للأكاروسات المفترسة مثل P.Persimilis (Bruin et al. 1992) . نباتات فول الليما المصابة بالعنكبوت الأحمر تطلق خليط متطاير يسوده – 1,3,7 – (E) –B- oeimene dimethyl , (E) – 4,8 non atriene (DMNT) وهى مونوتربين و C11 هومونوتربين على التوالى . فى النباتات المجاورة فإن كل من هذه المركبات يحفز مستوى نسخ البروتينات المرتبطة بالممرض وإنزيم فينيل الانين أمونيا لييز (Arimura et al. 2002) . المركبات المتطايرة تزيد كذلك من تركيزات النسخ للانزيمين المشاركين فى التخليق الحيوى للتربين: ليبوكسى جينيز كتاليزيس وهى الخطوة الأولى فى التخليق الحيوى للجسمونات وهو منظم هام للتخليق الحيوى للتربين والفرينسيل دايفوسفات سينيسيز وهو الإنزيم الخاص بالتخليق الحيوى للتربين . من المثير للاهتمام أن مستويات نسخ هذه الجينات تحفز أسرع بعد تعريض فول الليما لمركب DMNT والهوموتربين المرتبط (3E , 7E) – 4,8,12 – trimethyl – 1,3,7,11 – tridecatetraene . فى أنواع نباتية أخرى وجد أن هذ التربينات لم تكن فعالة فى الابداء . فى نباتات الذرة على سبيل المثال لم تلاحظ أية تأثيرات بعد تعرض النباتات لمركب DMNJ الخارجية .

التربينات المتطايرة تلعب دوراً هاماً كذلك فى إيجاد العائل بواسطة النباتات المتطفلة. بادرات العليق تفعل سلوك لإيجاد العائل يسترشد بواسطة المواد المتطايرة من العائل النباتى . البادرات ذات مقدرة على التمييز بين المواد المتطايرة للطماطم والقمح والعديد من التربينات المخلقة الأحادية والعديدة (الشكل ١٠-٦ C) . هذا يوضح تمييز النغمات الدقيقة للنباتات العوائل بواسطة تكوين انبعاثات التربينات الخاصة بها (Runyon et al. 2006) .

٣- المنظورية والرؤى

فى الحقبة الزمنية الأخيرة زودتنا الأجهزة عالية الحساسية والطرق العقلانية السهلة لجمع وتقدير وتعريف المواد المتطايرة برؤى أفضل عن التداخلات التى تعال بالتربينات فيما بين النباتات وأعدائها الطبيعية . إذا أخذ فى الاعتبار الأعداد الكبيرة من التربينات التى تنبعث والعائلات الكبيرة من جينات تربين سينسيز فإن اكتشاف العديد والكثير من هذه التداخلات أكثر احتمالاً . التقدم فى البيولوجيا الجزيئية تسهل البحوث على الجينات الخاصة بالتخليق الحيوى للتربينات وتنظيم انبعاث التربينات استجابة للإشارات الخارجية . توصيف جينات التخليق الحيوى للتربين تقدم كذلك وسائل لهندسة النباتات المتحولة وراثياً مع انبعاثات خاصة لمواد متطايرة مغايرة . فى المستقبل سوف تستمر هذه النباتات فى مساعدتنا فى حل لغز الوظائف الايكولوجية المعقدة لانبعاثات التربين .

References

Aharoni A, Giri AP, Deuerlein S , Griepink E , de Kogel WJ , Verstappen FWA , Verhoeven HA , Jongsma MA , Schwab W , Bouwmeester HJ (2003) Terpenoid metabolism in wild – type and transgenic Arabidopsis plants , plant cell 15 : 866 – 2884

Bruin J , Dicke M, Sabelis MW (1992) plant are better protected against spider – mites after exposure to volatiles from infested conspecifics , Experientia 48 : 525 – 529

Chen F, Ro DK , Petri J, Gershenzon J , Bohlmann J, Pichersky E, Tholl D (2004) Characterization of a root – specific Arabidopsis terpene synthase responsiblee for the formation of the volatile monoterpene 1,8 – cineole . plant physiol 135 : 1956 – 1966

Dicke M (1999) Are herbivore – induced plant volatiles reliable inicators of herbivore identity to foraging carnivorous arthropods ? Entomol Exp Appl 91 : 131 – 142

Farag MA , Pare PW (2002) C6 – Green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato , phytochemistry 61 : 545 – 554

Guenther AB , Zimmerman PR , Harley PC , Monson RK , Fall R (1993) Isoprene and monoterpene emission rate variability – model evaluations and sensitivity analyses . J Geophys Res 98 : 12609 – 12617

Howe GA (2004) Jasmonates as signals in the wound response . J Plant Growth Regul 33 : 223 – 237

Johnson CB , Kirby J , Naxakis G , Pearson S (1999) Substantial UV – B – mediated induction of essential oils in sweet basil (Ocimum basilicum L.) phytochemistry 51 : 507 – 510

Kunert G , Outo S , Rose USR , Gershenzon J , Weisser WW (2005) Alarm pheromone mediates production of winged dispersal morphs in aphids . Ecol Lett 8 : 596 – 603

Molck G , Micha SG , Wyss U (1999) Attraction to odour of infested plants and learning behaviour in the aphid parasitoid Aphelinus abdominalis . J plant Dis protect 106 : 557 – 567

Pare PW , Tumlinson JH (1997) De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants . plant phvsiol 114 : 1161 – 1167

Ruther J , Furstenau B (2005) Emission of herbivore –induced volatiles in absence of a herbivoreresponse of Zea mays to green leaf volatiles and terpenoids . Z Naturforsch 60 : 743 – 756

Spiteller D , Boland W (2003) N- (17 – acyloxy – acyl) – glutamines ; novel surfactants from oral secretions of lepidopteran larvae . J Org Chem 68 : 8743 – 8749

Turlings TCJ , Tumlinson JH , Lewis WJ (1990) Exploitation of herbivore – induced plant odors by host – seeking parasitic wasps . Science 250 : 1251 – 1253

Van Den Boom CEM , Van Beek TA , Posthumus MA , De Groot A , Dicke M (2004) Qualitative and quantitative variation among volatile profiles induced by Terranychus urticae feeding on plants from various families , J Chem Ecol 30 : 69 - 89

الباب الحادي عشر

دراسات مصرية عن إمكانية استخدام المواد الفعالة النباتية كأحد وسائل المكافحة المتكاملة للآفات : تحفيز المقاومة النباتية

أولاً : إمكانية استخدام المواد الفعالة النباتية كأحد وسائل المكافحة الحيوية

رسالة دكتوراة للسيد / أحمد عبد السلام خميس للحصول على درجة الدكتوراة فى العلوم الزراعية " كيمياء مبيدات الآفات " من كلية الزراعة جامعة الإسكندرية تحت إشراف أ ٠ د ٠ ماهر إبراهيم على – أ٠ د ٠ فوقية عبد الفتاح عبد المجيد و د٠ صفاء مصطفى عبد الرحمن عام ٢٠٠٩ .

أصبحت المكافحة المتكاملة للآفات هى السبيل لتحقيق مستهدفات المهتمين بمجال المكافحة سواء على المستوى الأكاديمى أو التطبيقى لما لها من آثار إيجابية للتحكم الفعال فى الآفات مع الحفاظ على جودة المنتج الزراعى بجانب المحافظة على البيئة بصورة عامة. تتعدد وسائل المكافحة المتكاملة للآفات والتى منها زيادة القدرة الدفاعية للنبات لمقاومة الإصابة بالأمراض ومهاجمة الآفات . يمكن اكساب النبات صفة المقاومة بطرق بيوتكنولوجية معتمدة على التغيرات الجينية ومن الطرق الأخرى لإكساب النبات القدرة على مقاومة الآفات هى إجراء عملية حث النبات لإنتاج مركبات نشطة حيوياً بتركيزات تزيد قدرته الدفاعية ضد الآفات .

أجريت الرسالة بهدف دراسة إمكانية الحصول على محفزات للمقاومة النباتية وذلك بتقييم استخدام بعض طرق الحث سواء كانت كيماوية أو طبيعية أو حيوية لإكساب النبات صفة القدرة على مقاومة الآفات والأمراض مع الحفاظ على جودة المحصول كماً ونوعاً مع الأخذ فى الاعتبار البعد الاقتصادى والأمان البيئى . اشتملت الدراسة على تقييم استخدام بعض المحفزات المعروفة وأيضاً الجديدة سواء كانت مواد كيماوية أو طرق طبيعية أو مستحضرات حيوية عن طريق معاملة البذور وذلك لمحصولين من أهم محاصيل الخضر (البسلة والفاصوليا) من حيث أهميتها المحلية والتصديرية . أجرى البحث على ثلاث مستويات رئيسية الأول عبارة عن حصر وغربلة للمحفزات من حيث قدرتها على حث النباتات لإنتاج المركبات الفينولية بأنواعها المختلفة ومن ثم زيادة القدرة الدفاعية للنباتات دون ظهور أى مظاهر للسمية النباتية والمستوى الثانى هو تطبيق للمعاملات المختلفة تحت ظروف البيوت الزجاجية بينما المستوى الثالث يمثل التجارب الحقلية .

المحفزات المختبرة هى :

١- مواد كيميائية : الكيتوزان – الصمغ العربى – حامض الأسكوربك – حامض السالسيليك – زيت الجوجوبا – ٥,٣ داى كربوكسيل بيرازول – ميثيل جاسمولين – سليكات البوتاسيوم .

٢- طرق طبيعية : الحرارة الجافة والرطبة – الأشعة فوق البنفسجية وأشعة الميكروويف .

٣- مستحضرات بيولوجية : مستحضر الهالكس المكون من مجموعة بكتريا مخصبة للنبات .

مثلت العلاقة بين تركيز المادة الكيميائية المختبرة مع زمن معاملة البذور فى المحلول عاملاً أساسياً محدداً لكمية الفينول المستحثة مع عمر النبات وأيضاً فإن كمية الفينولات المستحثة فى حالة الطرق الطبيعية ارتبطت بزمن المعاملة بينما فى حالة المستحضر الحيوى ارتبطت بتركيز المستحضر . لذا فقد قيمت المحفزات بالاعتماد على تركيز الفينول المستحث فى النبات كدلالة لكفاءتها ولقد استحدث التعبير " المعاملة المثلى للفينولات المستحثة " Optimum treatment of induced phenols (OTIP) " للدلالة عن المعاملات التى أنتجت أعلى كمية فينولات مع عدم ظهور أى مظاهر للسمية النباتية .

يمكن استعراض أهم النتائج المتحصل عليها كما يلى :

١- كانت المعاملة المثلى للفينولات المستحثة لكل من الكيتوزان وزيت الجوجوبا وحمض الأسكوربيك وحمض الساليسلك فى حدود تركيزات من ١٠٠ – ٥٠٠٠ جزء فى المليون ولفترة عدة ساعات فى حالة البسلة بينما عدة دقائق فقط فى حالة الفاصوليا .

٢- تحسنت الصفات النباتية للفاصوليا بالمعاملات حيث زاد كل من طول النبات والتفرع كما زاد الوزن الجاف بمعدل ثلاث أضعاف فى حالة الهالكس وبمعدل الضعفين فى حالة الكيتوزان والأشعة فوق البنفسجية وبمعدل ١,٥ ضعف فى حالة الكربوكسيل بيروازول بالمقارنة بالكنترول .

٣- المستخلصات الفينولية لأوراق نبات الفاصوليا أظهرت تأثيراً بيولوجياً واضحاً على يرقات دودة ورق القطن حيث أظهرت المعاملة بالكيتوزان أعلى نسبة موت وكذلك أعلى نشاط كمانع للتغذية وأيضاً أعلى تثبيط لإنزيمات البروتييز .

٤- ظهر انخفاضاً واضحاً فى إصابة نبات الفاصوليا بالآفات المختلفة حيث كانت النسبة المئوية للخفض فى الإصابة ١٠٠% فى حالة المعاملة بالكيوزان بالنسبة للمنّ والذبابة البيضاء وفى حالة المعاملة بالكربوكسيل بيرازول والهالكس فى حالة التربس وصانعات الأنفاق .

٥- بالنسبة لتأثير المحفزات المختلفة على كثافة بعض الأعداء الطبيعية (المتطفل الخارجى لصانعات الأنفاق ، أسد المنّ) أدت جميع المعاملات تحت الظروف الحقلية إلى زيادة المتطفل الخارجى لصانعات الأنفاق وكان أعلاها تأثيراً الهالكس والكربوكسيل بيرازول كما أدت معاملة الهالكس إلى زيادة معنوية فى تعداد أسد المنّ .

٦- جميع المعاملات بما فيها معاملة التطبيقات الزراعية التقليدية أدت إلى خفض نسبة الإصابة بمرض اللفحة الهالية فى قرون الفاصوليا وكان أفضلها معاملتى الكيتوزان والداى كربوكسيل بيرازول حيث نتج محصول بصفات تصديرية عالية الجودة .

٧- جميع المعاملات ما عدا معاملة المبيدات أدت لزيادة جودة المحصول النوعية حيث زادت نسب السكريات الذائبة والفيتامينات والكربوهيدرات ومانعات الأكسدة بقرون الفاصوليا وكانت أفضل النتائج لمعاملتى الهالكس والكيتوزان .

٨- جميع معاملات المحفزات المختبرة أدت إلى زيادة عالية للمحصول بمعدل ٢ ، ١ ، ٦ أضعاف فى معاملتى الكربوكسيل بيرازول والأشعة فوق البنفسجية وبمعدل ٤ ، ١ ، ٧ أضعاف فى معاملتى الكيتوزان والهالكس وبالتالى أربحية مرتفعة للمنتج ويرجع ذلك إلى خفض تكلفة الإنتاج وزيادة المنتج كماً ونوعاً وكان أفضلها معاملتى الكيتوزان والهالكس .

أثبتت الدراسات وجود علاقة وثيقة بين معاملات المحفزات المختبرة ومحتوى الفينولات فى كل من البسلة والفاصوليا وبالتالى حماية النباتات من الإصابة الحشرية والفطرية والحفاظ على الأعداء الطبيعية مما يعكس ذلك على زيادة كمية المنتج ورفع جودته خاصة محتواه من المواد المانعة للأكسدة مما يؤهله ليكون منتجاً متميزاً للتصدير .

عموماً يمكن القول أن استخدام محفزات لتكوين الفينولات فى النبات بتركيزات عالية تصلح كوسيلة مناسبة وفعالة لتطبيقها ضمن برنامج المكافحة المستنيرة وإدارة المحصول . وتعد هذه الدراسة من أحد الدراسات القليلة التى ألقت الضوء على عملية حث المقاومة النباتية بمعاملة البذور وقد تكون الأولى لمحاولة استخدام الكيتوزان وزيت الجوجوبا لهذا الغرض . وبناءاً على النتائج المتحصل عليها يقترح استخدام أحد الوسائل سواء من المواد الطبيعية الخام كالكيتوزان وزيت الجوجوبا أو من المركبات الكيميائية كربوكسيل بيرازول أو من الطرق الطبيعية الأشعة الفوق بنفسجية بمعاملة البذور كمحفزات للمقاومة النباتية فى حالة كل من البسلة والفاصوليا ومن الواضح أن هذه الطريقة مناسبة جداً للتطبيق فى الدول النامية بديلاً عن الطرق التى تحتاج لإمكانيات مادية وتكنولوجية مرتفعة .

ثانياً : تأثير معاملات سمادية وحيوية على مكافحة مرض البياض الدقيقى فى بعض محاصيل الخضر .

رسالة مقدمة من الطالبة / مها حلمى محمد حسن للحصول على درجة الماجستير فى العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس ٢٠٠٩ – تحت إشراف د٠ مجدي جاد الرب محمد السمان ، د ٠ مدحت كامل على السيد .

يعتبر مرض البياض الدقيقي على محاصيل الخضر أحد المشاكل المرضية الهامة ويعد محصول الفلفل ومحاصيل النباتات التابعة للعائلة القرعية أكثر تلك المحاصيل تأثراً بالمرض . سواءً في الزراعات المحمية أو المفتوحة ، حيث يسبب فقداً كبيراً في المحصول بالإضافة لاعتماد المزارعين على الرش الدوري بالمبيدات الفطرية لمكافحة المرض وهو ما يمثل تكلفة اقتصادية بالإضافة إلى تلوث المنتج الزراعي وآثاره الضارة على الصحة العامة . أدى ذلك إلي تطوير استخدام المستحثات الكيميائية والبيولوجية بصفة منفردة أو متجمعة على حث نباتات الكنتالوب والفلفل لمقاومة مرض البياض الدقيقي وذلك تحت ظروف تجارب البيوت المحمية . وقد استخدمت المستحثات الكيميائية سيليكات البوتاسيوم بتركيز (١٧ ملليمولر) ، فوسفات البوتاسيوم الأحادية والثنائية بتركيز (٥٠ و ١٠٠ ملليمولر) رشاً على المجموع الخضري بينما استخدمت المستحثات البيولوجية *Bacillus subtilis* (عزلة واحدة) و *Trichoderma harzianum* (عزلتين) و *Trichoderma viride* (عزلة واحدة) و *Pseudmonas fluorescens* (عزلتين) كمعاملات للبذور والجذور . وقد أجريت هذه المعاملات قبل العدوى بالمسبب المرضي .

ويمكن إيجاز النتائج على النحو التالي :

١. تم أولا اختبار مقاومة ثلاث أصناف من نباتات الكنتالوب ضد مرض البياض الدقيقي وهي صنف أناناس (Ananas) ، جاليا (Galia) وشهد دقي (Shahd Dokki) تحت ظروف الصوبة وذلك من خلال تقدير شدة الإصابة ومعدل تجرثم الفطر . حيث أظهرت النتائج تفاوت تلك الأصناف في حساسيتها للإصابة بالمرض ، حيث أظهر صنف شهد دقي أكثر تلك الأصناف حساسية في حين أظهر صنف أناناس مقاومة لهذا المرض ، بينما أظهر صنف جاليا حساسية متوسطة للإصابة وقد تم اختيار صنف شهد دقي (شديد الحساسية للإصابة) لاختبار المعاملات السمادية والحيوية .

٢. تم عمل تقييم ١٥ عزلة بكتيرية وفطرية مختلفة وتشمل : أربعة مركبات حيوية تجارية وتشمل : Bio Zeid® (*Trichoderma album*) و Rhizo-N® (*B.subtilis*) و Bio Arc® (*Bacillus megaterium*) و Plant Guard®

(*Trichoderma harzianum*) وكذلك ٤ عزلات بكتيرية *Pseudomonas fluorescens* ، ٢ عزلة بكتيرية *P.putida* ، ٢ عزلة لفطر *T.viridae* ، ٣ عزلة لفطر *T.harzianum* . حيث أظهرت هذه المعاملات تفاوت في تأثيرها على شدة الإصابة بالبياض الدقيقي من خلال معاملة البذور والجذور ، وكانت أفضل تلك المعاملات الحيوية هي : Rhizo-N® (*B.subtilis*) و Plant Guard® (*Trichoderma harzianum*) ، *Pseudomonas fluorescens* عزلة Pf1 , Pf2 ، وعزلة لكلا من *Trichoderma harzianum* عزلة (T1)، *Trichoderma viridae* عزلة (T2) ، حيث تم اختيار هذه العزلات لإجراء الاختبارات الحيوية .

٣. أدت معاملات الرش بالتركيزات المستخدمة من المواد محل الدراسة إلى إكساب كلا من نباتات الكنتالوب صنف شهد دقي وكذلك نباتات الفلفل صنف كاليفورنيا وندر مقاومة تجاه مرض البياض الدقيقي من خلال إحداث خفض معنوي في شدة الإصابة بالبياض الدقيقي وكذلك خفض في أعداد الجراثيم المتكونة . وقد ازدادت المقاومة وكانت أكثر وضوحاً في حالة الرش الورقي بمادة سيليكات البوتاسيوم بتركيز ١٧ ملليمولر يليها المعاملة بفوسفات البوتاسيوم الأحادية والثنائية بتركيز ١٠٠ ملليمولر .

٤. أدت المعاملة الحيوية بكلا من Rhizo-N® (*B.subtilis*) و Plant Guard® (*Trichoderma harzianum*) إلى زيادة المقاومة في نباتات الكنتالوب والفلفل والمتمثلة في خفض كلاً من النسبة المئوية لشدة الإصابة وكذلك خفض في أعداد الجراثيم المتكونة .

٥. أظهرت المعاملات المشتركة بكلاً من المعاملات السمادية والحيوية أفضل النتائج في خفض شدة الإصابة ومعدل التجرثم مقارنة بالمعاملات المنفردة بكل منهم ، حيث أظهرت المعاملة المشتركة بكلاً من سيليكات البوتاسيوم سواء بالدمج مع Rhizo-N® أو Plant Guard® أفضل تلك المعاملات فاعلية .

٦. تم دراسة تأثير المعاملات السمادية والحيوية على محتوى الكلوروفيل ، حيث أدت المعاملات إلى تقليل الخفض في محتوى الكلوروفيل الناتج عن الإصابة بالمرض .

٧. ارتبطت المعاملات السمادية والحيوية المختلفة بزيادة المحتوى الكلي للفينولات ، حيث أظهرت المعاملة بكلا من سيليكات البوتاسيوم (١٧ ملليمولر) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمولر) أفضل النتائج في زيادة محتوى الفينولات مقارنة بالنباتات الغير معاملة .

8. لوحظ زيادة عالية في نشاط إنزيم البيروكسيديز والبولي فينول أكسيديز في النباتات المعاملة بكلاً من سيليكات البوتاسيوم (١٧ ملليمولر) وفوسفات البوتاسيوم الأحادية والثنائية (١٠٠ ملليمولر) وكذلك المعاملة الحيوية بـ Rhizo-N® وارتبطت هذه الزيادة بأفضل المعاملات السمادية والحيوية المحدثة لخفض شدة الإصابة .

9. أظهرت نتائج فصل النظائر الإنزيمية للبيروكسيديز باستخدام الفصل الكهربي على رقائق الاكريلاميد للعينات النباتية أن كلاً من مادة سيليكات البوتاسيوم وفوسفات البوتاسيوم الأحادية أدت إلى تكوين نوع جديد من النظائر الإنزيمية للبيروكسيديز في الفلفل في حين أدت المعاملة الحيوية بـ Plant Guard® إلى تكوين اثنين من النظائر الإنزيمية للبيروكسيديز في نباتات الفلفل .

10. أثبتت نتائج فصل البروتين الذائب المستخلص من نباتات الكنتالوب ظهور حزم بروتينية جديدة كنتيجة للمعاملات السمادية المختلفة ، حيث أظهرت المعاملة بسيليكات البوتاسيوم (١٧ ملليمولر) وفوسفات البوتاسيوم الأحادية (١٠٠ ملليمولر) ظهور حزمة بروتينية ذات وزن جزيئي ٥١,٩ و ٩,٨ كيلو دالتون على التوالي في حين أظهرت المعاملة بفوسفات البوتاسيوم الثنائية ظهور ثلاث حزم بروتينية ذات أوزان جزيئية مختلفة ٩٢,٤ و ١٨,٠ و ٨,٥ كيلو دالتون . أظهرت نتائج فصل البروتين في نباتات الفلفل أيضاً بتلك المركبات ظهور حزم بروتينية متباينة فقد أظهرت المعاملة بكلاً من سيليكات البوتاسيوم (١٧ ملليمولر) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمولر) ظهور حزم بروتينية مميزة ذات وزن جزيئي منخفض هما ٢٢,٢ و ٢٠,٥ كيلو دالتون على التوالي في حين أظهرت المعاملة بفوسفات البوتاسيوم الأحادية (١٠٠ ملليمولر) ثلاث حزم بروتينية ذات أوزان جزيئية مختلفة هما ٧٣,٢ و ٣٨,٠ و ٢٢,٢ كيلو دالتون . كما أدت المعاملة بكلاً من Rhizo-N® إلى ظهور حزمتين بروتينية ذات وزن جزيئي منخفض هما ٣٧,٦ و ٢٢,٢ كيلو دالتون في حين أدت المعاملة بـ Plant Guard® إلى ظهور حزمة بروتينية جديدة ذات وزن جزيئي ٢٢,٢ كيلو دالتون .

11. تم دراسة تأثير المعاملات المختلفة سواء سمادية أو حيوية على صفات النمو المختلفة والمتمثلة في الوزن الغض والجاف ، أطوال النباتات ومساحة الورقة وكذلك عدد الأوراق لكل نبات في الكنتالوب ومعدل تساقط الأوراق في نباتات الفلفل ، حيث أدت المعاملات إلى تحسين صفات النمو المختلفة مقارنة بالنباتات الغير معاملة والمعدية بالفطر حيث ارتبطت نتائج تحسين صفات النمو بخفض شدة الإصابة .

نستنتج من هذه الدراسة الآتي :

قدرة المعاملات المختلفة سواء معاملة رش الأوراق السفلية لنباتات الكنتالوب والفلفل بالمركبات السمادية أو معاملة البذور والجذور بالعوامل الحيوية على خفض شدة الإصابة بالبياض الدقيقي كنتيجة للمعاملة المسبقة بهذه العوامل المختبرة سواء من خلال المعاملات المنفردة أو بالدمج بين هذه المعاملات تحت ظروف الصواب . كما تؤكد النتائج قدرة هذه العوامل المختبرة على حث نباتات الكنتالوب والفلفل لمقاومة مرض البياض الدقيقي جهازياً. مما يساهم في إلقاء الضوء نحو تطبيق دمج المعاملات السمادية والحيوية معاً في برامج المكافحة المتكاملة لأمراض البياض الدقيقي كإحدى وسائل المقاومة الآمنة لأمراض النبات .

ثالثاً : إحداث المقاومة في نباتات القمح ضد مرض صدأ الأوراق المتسبب عن فطر Puccinia triticina

رسالة مقدمة من الطالبة / ماريان شكري ثابت للحصول على درجة ماجستير في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ٢٠٠٨ تحت إشراف أ.د. سمير حسن محمود الديب ، أ.د. سعيد عواد شحاتة ، د. عماد الدين علي مصطفى جادو عام ٢٠٠٨ .

يعتبر القمح من أهم محاصيل الحبوب كغذاء للإنسان ، وبلغت المساحة المنزرعة من القمح في مصر أقصاها موسم ٢٠٠٧ حوالي ٢,٨ مليون فدان أنتجت حوالي ٨,١٨٥ مليون طن . ويتعرض القمح للعديد من الأمراض الفطرية أهمها في مصر الأصداء والتفحم السائب والبياض الدقيقي .

تعتبر أصداء القمح من أهم الأمراض التي تسبب خسائر للمحصول حيث أن لها قدرة ديناميكية على إنتاج سلالات أو طرز مرضية جديدة قادرة على كسر صفة المقاومة ، بالإضافة إلى قدرة الجراثيم اليوريدية على الانتقال الفعال بواسطة الرياح عبر الدول ، مما يؤكد استمرارية دراسة هذه الديناميكية والبحث عن مصادر المقاومة الفعالة والأكثر استدامة . لذلك تحتاج إلى جهود مستمرة من تعاون بين الباحثين في مجال تربية النباتات وأمراض النباتات لإنتاج أصناف عالية المحصول ومقاومة للأصداء .

تعتبر المقاومة الجهازية المكتسبة من أهم الطرق الحديثة المستخدمة في مقاومة صدأ الأوراق حيث يتم حث النبات على المقاومة من خلال تثبيط بعض العمليات الفسيولوجية داخل النبات بدون التأثير على جينوم النبات .

أجريت خلال هذه الدراسة العديد من التجارب وذلك بهدف حصر وتعريف لأهم السلالات الفسيولوجية لفطر صدأ الأوراق *Puccinia triticina* في بعض المحافظات المصرية ودراسة تأثير بعض المستحثات على شدة الإصابة مع دراسة التفاعل ما بين العائل والمسبب المرضي والمواد المستخدمة للحث على المقاومة من خلال بعض الدراسات الفسيولوجية والدراسات الميكروسكوبية .

أجريت التجارب الخاصة بهذا البحث في صوب ومعامل قسم أمراض النبات بكلية الزراعة – جامعة عين شمس كما أجريت بعض التجارب في صوب قسم بحوث أمراض القمح بمعهد أمراض النبات بمركز البحوث الزراعية – الجيزة وذلك خلال موسمي ٢٠٠٥/٢٠٠٤ – ٢٠٠٦/٢٠٠٥ .

ويمكن تلخيص أهم النتائج المتحصل عليها في هذه الرسالة في النقاط التالية :

١. تم خلال موسمي ٢٠٠٤/٢٠٠٣ – ٢٠٠٥/٢٠٠٤ حصر لسلالات فطر صدأ الأوراق المتسبب عن فطر *Puccinia triticina* من خلال حقول القمح وتجارب مصائد أصداء القمح المصرية . وذلك بجمع عينات من بعض محافظات شمال ووسط وجنوب مصر وهي الإسكندرية ، كفر الشيخ ، البحيرة ، دمياط ، الشرقية ، الدقهلية ، القليوبية ، المنوفية ، الفيوم ، بني سويف ، سوهاج، قنا .

أ- تعريف السلالات الفسيولوجية أو الطرز المرضية :

تم تعريف السلالات الفسيولوجية لفطر صدأ أوراق القمح خلال موسمي ٢٠٠٤/٢٠٠٣ – ٢٠٠٥/٢٠٠٤ وحصلنا على النتائج التالية :

- خلال موسم ٢٠٠٤/٢٠٠٣ تم تعريف ١٢ سلالة فسيولوجية وكان أكثرها تكراراً سلالة رقم ٦٠ يليها سلالة رقم ٧٧ .
- خلال موسم ٢٠٠٥/٢٠٠٤ تم تعريف ١٢ سلالة فسيولوجية وكان أكثرها تكراراً سلالة ١٤٩ رقم سلالة رقم ٧٧ .

ب- التوزيع الجغرافي للسلالات الفسيولوجية لفطر *Puccinia triticina* في بعض المحافظات المصرية :

تم حصر السلالات الفسيولوجية التي تم تعريفها في بعض المحافظات المصرية خلال موسمي ٢٠٠٤/٢٠٠٣ – ٢٠٠٥/٢٠٠٤ وكانت النتائج كالآتي :

- خلال موسم ٢٠٠٤/٢٠٠٣ احتلت محافظة الشرقية المرتبة الأولى من حيث العزلات التي تم عزلها ، يليها محافظة الإسكندرية .

- خلال موسم ٢٠٠٥/٢٠٠٤ احتلت محافظة الشرقية المرتبة الأولى من حيث المعاملات التي تم عزلها ، يليها محافظة الدقهلية والفيوم .

٢. الحث على المقاومة :

أجرى هذا البحث لدراسة كفاءة بعض المواد الكيميائية المختلفة على إكساب بادرات القمح مقاومة ضد مرض صدأ الأوراق وقد تم استخدام صنف قابل للإصابة (سدس ١) وصنف متوسط القابلية للإصابة (جيزة – ١٦٨) وتم معاملة البادرات في عمر ١٤ يوم (مرحلة ورقتان) بأحد المعاملات التالية :

- البيون BTH (٠,٣ – ٠,٦ – ١ ملي مول) .
- حمض بيتا أمينو بيوتيريك B-ABA (٢٥٠ – ٥٠٠ – ١٠٠٠ ميكروجرام/مول) ، حمض السلسيلك SA (٢٥٠ – ٥٠٠ – ١٠٠٠ ميكروجرام/مول) .
- إندول حمض الخليك IAA (٢٥ – ٥٠ – ١٠٠ ميكروجرام/مول) .

ثم أجريت العدوى بالفطر بعد المعاملة بخمسة أيام . وقد كانت النباتات ذات ثلاثة أوراق وبذلك فقد تم تقدير الإصابة وكذلك التأثيرات الفسيولوجية والتشريحية المختلفة في مكان المعاملة بالمستحثات (الورقة الثانية) وكذلك في مكان لم يعامل (الورقة الثالثة) وذلك لمعرفة هل تنقل الإشارة المسئولة عن المقاومة من مكان تكونها إلى باقي النبات أم لا وذلك بعد ١٥ يوم من العدوى بفطر *Puccinia triticina* .

وقد أظهرت النتائج ما يلي :

١. أدت التركيزات المستخدمة من المواد محل الدراسة إلى إكساب بادرات القمح مقاومة تجاه مرض صدأ الأوراق وذلك من خلال حدوث نقص واضح في طرز الإصابة ومتوسط عدد البثرات في وحدة المساحة في كلا الصنفين القابل للإصابة ومتوسط القابلية للإصابة .

٢. وقد ازدادت المقاومة بزيادة التركيز وكانت أكثر وضوحاً في حالة رش البادرات بمادة B-ABA بتركيز ١٠٠٠ ميكروجرام/مل يتبعها المعاملة بمادة IAA بتركيز ١٠٠ ميكروجرام/مل حيث أن كلا المعاملتين تؤدي أحياناً إلى ظهور عرض التبقع فقط دون تطورها إلى مرحلة ظهور البثرات وكان أقل المواد المستخدمة تأثيراً هي مادة SA بتركيز ١٠٠٠ ميكروجرام/مل . وكان التأثير أكثر وضوحاً في العينات المأخوذة من الورقة الثالثة (التي لم يتم رشها بالمعاملات المختلفة) عن تلك الخاصة بالورقة الثانية (التي تم رشها بالمعاملات)

من خلال هذه النتيجة يظهر تأثير المقاومة المكتسبة وانتقالها خلال الأنسجة الغير معاملة .

٣. أدت المعاملات محل الدراسة إلى زيادة الفينولات الحرة في كلا من الصنفين القابل ومتوسط القابلية للإصابة وكانت أفضل المعاملات هي مادتي IAA – SA وذلك على مستوى الورقة الثانية والورقة الثالثة .

كما أظهرت النتائج زيادة واضحة في الفينولات المرتبطة في حالة الصنف القابل للإصابة بينما قلت في حالة الصنف متوسط القابلية ووجد أن الرش بالمعاملات المختلفة يعمل على زيادة الفينولات المرتبطة في حالة الصنف القابل للإصابة وكان أفضل المعاملات هي B-ABA بينما عملت على تقليل الفينولات المرتبطة في الصنف متوسط القابلية للإصابة ولوحظ نفس النتائج بالنسبة للفينولات الكلية على مستوى الصنفين القابل ومتوسط القابلية للإصابة .

وبصفة عامة كانت الزيادة أكثر على مستوى الورقة الغير معاملة (الورقة الثالثة) عن الورقة المعاملة (الورقة الثانية) .

٤. لوحظ أيضاً زيادة عالية في نشاط إنزيم البيروكسيديز في النباتات المعداة بالفطر مقارنة بالنباتات السليمة وذلك على مستوى الورقة الثانية والثالثة في كلا الصنفين القابل والمقاومة للإصابة .

ووجد أن الرش بالمعاملات المختلفة يعمل على زيادة نشاط إنزيم البيروكسيديز وكانت أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA في كلا الصنفين على مستوى الورقة الثانية أما على مستوى الورقة الثالثة فكانت أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA في الصنف القابل للإصابة بينما مادة BTH ومادة B-ABA في الصنف متوسط القابلية للإصابة .

وبصفة عامة كانت الزيادة على مستوى الورقة المعاملة أكبر من الورقة الغير معاملة وذلك في كلا الصنفين .

٥. لوحظ أيضاً نقص في نشاط إنزيم البولي فينول أكسيديز في النباتات المعداة بالفطر مقارنة بالنباتات السليمة وذلك على مستوى الورقة الثانية والثالثة في كلا الصنفين الحساس ومتوسط القابلية للإصابة .

ووجد أن الرش بالمعاملات المختلفة يعمل على زيادة نشاط إنزيم البولي فينول أكسيديز وكانت أفضل المعاملات على مستوى الورقة الثانية (التي تم معاملتها) هي مادة BTH ومادة IAA في الصنف القابل للإصابة بينما مادة B-ABA ومادة BTH في الصنف المقاوم للإصابة . أما على مستوى الورقة الثالثة (التي لم يتم معاملتها) فكانت كل

المعاملات تعمل على نقص واضح في نشاط الإنزيم ماعدا معاملة IAA وذلك في الصنف القابل للإصابة بينما حدث زيادة في نشاط الإنزيم عند الرش بالمعاملات المختلفة في الصنف متوسط القابلية للإصابة وكانت أفضل المعاملات هي مادة BTH ومادة B-ABA.

وبصفة عامة كانت الزيادة على مستوى الورقة الثانية أكبر من الورقة الثالثة وذلك في كلا الصنفين .

٦. أمكن فصل النظائر الإنزيمية للبيروكسيديز باستخدام الفصل الكهربي على رقائق الاكريلاميد للعينات النباتية المعاملة بمادة B-ABA ومادة IAA حيث وجد أن مادة B-ABA تعمل على تكوين اثنين من النظائر الإنزيمية للبيروكسيديز على مستوى الورقة الثانية في الصنف القابل للإصابة ونظير إنزيمي واحد على مستوى الورقة الثالثة في الصنف متوسط القابلية للإصابة . أما مادة IAA عملت على تكوين نظير إنزيمي واحد على مستوى الورقة الثانية في الصنف القابل للإصابة واثنين من النظائر الإنزيمية على مستوى الورقة الثالثة في الصنف متوسط القابلية للإصابة .

٧. أثبت فصل البروتين الذائب المستخلص من النباتات تحت تأثير المعاملة بمادة B-ABA أن العوامل المحثة على المقاومة تعمل على بناء البروتين المرتبط بالعدوى من العائلة (PR1) ، وقد ظهرت حزمة مميزة ذات وزن جزيئي ٢٢,٢ كيلو دالتون على مستوى الورقة الثانية والثالثة في كلا الصنفين القابل ومتوسط القابلية للإصابة . بينما ظهرت حزمة مميزة ذات وزن جزيئي ٢٩,٨ كيلو دالتون على مستوى الورقة الثالثة فقط في كلا الصنفين .

٨. استخدم المجهر الضوئي والفلورسنتي وكذلك المجهر الإليكتروني الماسح وذلك لإلقاء مزيد من الضوء على التفاعلات بين العائل والطفيل وكذلك تطور حدوث المرض على سطح العائل وكانت أهم النتائج المتحصل عليها ما يلي :

- لوحظ أن المعاملات لم تؤثر على إنبات الجراثيم ولكن تأثر معدل تكوين أعضاء الالتصاق للفطر وكان أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA .

- تؤدي المعاملات إلى قلة انتشار الهيفات خلال النسيج المتوسط للأوراق كما لوحظ تقليل الضرر والتهتك الحادث بالخلايا النباتية لكونها أكثر مقاومة وتحملاً للإصابة وذلك خلال مرحلتي flecks ومرحلة البثرات وكان أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA .

- تؤدي المعاملات إلى تقليل مساحة البثرات على النباتات الحساسة ومتوسط القابلية للإصابة وكان أفضل المعاملات هي مادة B-ABA ومادة IAA وكان التأثير أكثر وضوحاً في حالة الصنف متوسط القابلية للإصابة .

- لوحظ بعض التغيرات في خلايا النسيج المتوسط والحزم الوعائية نتيجة حدوث الإصابة حيث وجد أن خلايا غلاف الحزمة بدأ يحدث لها تهتك وانكماش مع وجود خلل في شكل نسيج اللحاء مع قلة تكوين العناصر الغربالية في اللحاء وذلك في الأوراق المصابة ولكن وجد أن الرش بمادتي B-ABA – IAA تعمل على تكوين حزم وعائية قريبة إلى الشكل الطبيعي مع قلة الخلل الحادث في خلايا النسيج المتوسط والعناصر الغربالية لنسيج اللحاء .

- ترتب على ارتفاع تركيزات المركبات الفينولية في البادرات المعاملة ، زيادة واضحة في ترسيبات اللجنين في الحزم الوعائية في حالة الصنف القابل للإصابة وذلك في حالة المعاملة بمادتي B-ABA – IAA .

- وجد أن بعض الخلايا حدث بها ردة فعل الحساسية الزائدة نتيجة لحدوث الإصابة وذلك في الصنف متوسط القابلية للإصابة ، وذلك عند المعاملة بمادة B-ABA ووجد أن هذه الخلايا تعطي وميض أصفر فلورسنتي وفي المراحل المتأخرة من الإصابة نجد أن أسفل البثرة جميع الخلايا تعطي وميض فلورسنتي وذلك عند الفحص بالميكروسكوب الفلورسنتي لبعض العينات التي تم صبغها بصبغة trypan blue .

ومن خلال الدراسة أيضاً وجد أن أجزاء الفطر المختلفة (الجراثيم اليوريدية – أنبوب الإنبات – البثرات) تعطي وميض فلورسنتي بدون استخدام أي نوع من الصبغات الفلورسنتية .

وبصفة عامة يمكن استنتاج الآتي :

- قلة معدلات الإصابة بمرض صدأ الأوراق في مكان الرش بالمستحثات المستخدمة (الورقة الثانية) بالإضافة إلى ذلك وجد أن هذا التأثير ينتقل إلى الورقة الثالثة (التي لم يتم معاملتها بالمواد المحثة) وبالتالي تؤكد النتائج قدرة هذه المركبات على حث نباتات القمح لمقاومة مرض صدأ الأوراق جهازياً .

رابعاً : السمات الجزيئية لآليات المقاومة المستحثة لمرض الذبول الفيوزاريومي في البطيخ

رسالة مقدمة من الطالب / عماد الدين علي مصطفى جادو للحصول على درجة دكتوراه فلسفة في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ٢٠٠٣ تحت إشراف أ.د. مصطفى حلمي مصطفى و أ.د. مديح محمد علي و أ.د. أحمد بهي الدين محمد عام ٢٠٠٣ .

يعتبر مرض الذبول الفيوزاريومي في البطيخ أحد أخطر الأمراض التي تحد من زراعته في التربة الحاملة للمسبب المرضي . من أهم الاتجاهات الحديثة لمقاومة هذا المرض هو الحث على مقاومة النبات للإصابة باستخدام عوامل حيوية وعوامل غير حيوية. قد استهدفت هذه الدراسة التوصل لآليات المقاومة المستحثة في النباتات المعاملة بالعوامل غير الحيوية . يمكن تلخيص أهم نتائج هذه الدراسة فيما يلي :

١. أمكن التعريف على المسبب المرضي لذبول البطيخ على أنه *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (العزلة ٢) .

٢. تباينت درجة مقاومة أصناف البطيخ للإصابة بالعزلة القوية للمسبب المرضي وقد أظهر الصنف ديكسي لي مقاومة عالية والصنف جيزة ١ مقاومة متوسطة والبطيخ السوداني صنف جورما حساسية عالية للمسبب المرضي .

٣. عزلة الفطر المقاومة للمبيد الفطري بنليت فقدت كثيراً من قدرتها المرضية على الأصناف الثلاثة المختبرة ديكسي لي وجيزة ١ وجورما .

٤. أدت معاملة بذور الأصناف الثلاثة السابقة الذكر وبحمض السليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين لإحداث المقاومة بها ضد مسبب مرض الذبول سواء على مستوى الأصص أو باستخدام تقنية أطباق البتري .

٥. تم تقدير نشاط إنزيم البيروكسيديز الذائب باستخدام الجواياكول ، الكاتيكول أو البيرجاللول في النباتات المحقونة بالعزلة الممرضة والسلالة غير الممرضة وقد وجد أن الجواياكول هو أكثر مواد التفاعل حساسية لنشاط إنزيم البيروكسيديز وقد لوحظ نظم نشاط مختلفة وأن حمض السليسيليك وفوق أكسيد الهيدروجين أعطت أعلى النتائج وعلى الأخص في حالة النباتات المحقونة بالعزلة الشديدة من المسبب المرضي .

٦. تم تقدير نشاط البيروكسيديز المرتبط بالميتوكوندريا باستخدام البيرجاللول كمادة تفاعل وقد وجد أن نشاط هذا النمط من البيروكسيديز يتزايد في النباتات المعاملة بعوامل الحث على المقاومة (حامض السليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين) .

٧. أمكن فصل النظائر الإنزيمية للبيروكسيديز السيتوبلازمي باستخدام الفصل الكهربي على رقائق الاكريلاميد وأظهرت الحزم الإنزيمية إما باستخدام البنزيدين كلورايد ، الجواياكول ، الكاتيكول أو البيرجاللول وقد تباينت النظائر الإنزيمية بشدة طبقاً لمادة التفاعل المستخدمة في الإظهار .

٨. أتضح أن إنزيم البيروكسيديز المتخصص في أكسدة الكاتيكول يغيب تماماً في النباتات غير المحقونة وكذا النباتات المحقونة بالعزلة القوية وقد أتضح أن النباتات المحقونة بالعزلة ضعيفة الإمراض أو المعاملة حامض السليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين تحوي هذا النظام الإنزيمي مما يؤكد أن نظائر هذا الإنزيم ترتبط بعمليات المقاومة الطبيعية وكذلك بالعوامل المحثة على المقاومة .

٩. أثبت فصل البروتين السيتوبلازمي الذائب المستخلص من النباتات تحت تأثير المعاملات المختلفة أن المقاومة الطبيعية والعوامل المحثة على المقاومة تعمل على بناء البروتين المرتبط بالعدوى من العائلة (PR1) ، وقد ظهرت حزمة مميزة ذات وزن جزيئي ٢٩ – ٣٠ كيلو دالتون . هذه الحزمة تميز النظام الأكسيدازي البديل ، مما يؤكد على أن المقاومة الطبيعية في البطيخ تتم عبر النظام الأكسيدازي البديل في الميتوكوندريا .

١٠. أتضح أن معاملة البذور بالمضاد الحيوي كلورا مفنيكول تدمر تماماً المقاومة الطبيعية لنباتات البطيخ ولما كان هذا المضاد الحيوي يوقف بناء البروتين في النظام الميتوكوندري S70 مما يؤكد على الدور الهام الذي تلعبه الميتوكوندريا في المقاومة .

١١. بدراسة المشابهات الإنزيمية للبيروكسيديز الميتوكوندري المظهر بواسطة الكاتيكول أتضح وجود علاقة بين آليات المقاومة الطبيعية والمقاومة المستحثة . وقد ثبت أن هذا الإنزيم ذو طبيعة سيتوبلازمية .

١٢. بدراسة نظام البروتين الميتوكوندري تحت تأثير المعاملة بالكلورا مفينيكول وكذا المقاومة المستحثة ثبت تباين هذا النظام تحت تأثير هذه المعاملات وقد وجد أن حزمة البروتين ذات الوزن الجزيئي ٢٩ – ٣٠ كيلو دالتون تغيب تماماً في جميع حالات المعاملة بالكلورا مفينيكول وتعتبر هذه الحزمة أحد مكونات النظام الأكسيدازي البديل مؤكدة أن بعض مكونات هذا النظام ذات أصل ميتوكوندري .

١٣. أمكن فصل البروتين السيتوبلازمي بواسطة الفصل الكهربي وقد وجد أن المعاملة بالكلورا مفينيكول تسبب اختزال في عدد حزم البروتين بالمقارنة بالنباتات غير المعاملة وقد أدت المقاومة الطبيعية والمستحثة بواسطة حمض

السليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين لظهور حزمة ذات وزن جزيئي ٣٥ – ٣٧,٧ كيلو دالتون ، وتنتمي هذه الحزم للنظام الأكسيدازي البديل .

١٤. أدت النتائج المتحصل عليها إلى افتراض أن المقاومة الطبيعية تحدث عن طريق الميتوكوندريا مؤدية لتغيير النظام الأكسيدازي الطبيعي إلى آخر بديل والنظام البديل هو المسئول عن إنتاج فوق أكسيد الهيدروجين في النباتات . يعمل فوق أكسيد الهيدروجين كنبضة تحفز تكوين مختلف وسائل المقاومة في النباتات وقد ثبت كذلك أن حمض الساليسيليك وفوق أكسيد الهيدروجين يمكن أن يحلا محل المقاومة الطبيعية عن طريق نظام الأكسيدازي البديل .

خامساً : مكافحة بعض أمراض المجموع الخضري الفطرية في الفول البلدي باستخدام معاملات حيوية وغير حيوية

رسالة الماجستير المقدمة من السيد / يوسف محمود عبد الحميد إسماعيل للحصول على درجة الماجستير في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ٢٠٠٤ تحت إشراف أ.د. نجوى عبده مصطفى جميل ، أ.د. أحمد أحمد أحمد موسى ، أ.د. جميلة إبراهيم سليمان عام ٢٠٠٤ .

يعتبر الفول البلدي أهم المحاصيل البقولية في مصر ، إلا أنه يتعرض للإصابة بالعديد من الأمراض الفطرية التي تهاجم المجموع الخضري للنبات أهمها أمراض التبقع البني (الشيكولاتي) ، والصدأ وتبقعات الأوراق الأخرى والتي تسبب خسائر كبيرة في المحصول كماً ونوعاً خاصة في مناطق الزراعة في شمال الدلتا والأرضي الجديدة . ونظراً للاتجاه إلى ترشيد استخدام المبيدات في مكافحة تلك الأمراض نظراً لخطورتها المحتملة على صحة الإنسان والحيوان والنظام البيئي ، وكذلك نظراً لظهور سلالات فطرية مقاومة لتأثيرها ، فقد صممت هذه الدراسة بهدف استخدام بعض العوامل الحيوية وغير الحيوية كبدائل للمبيدات الفطرية لمكافحة تلك الأمراض .

ويمكن تلخيص نتائج هذه الدراسة فيما يلي :

١. تم حصر الإصابة بأمراض المجموع الخضري الفطرية في الفول البلدي في بعض المناطق المستصلحة في مصر خلال موسم نمو ٢٠٠٠-٢٠٠١ ، وسجل انتشار أمراض التبقع الشيكولاتي والصدأ وتبقع الأوراق الألترناري وتبقع الأوراق الإستيمفيلي ، واختلفت شدة الإصابة بهذه الأمراض بين المناطق المختلفة، حيث كان مرض التبقع الشيكولاتي أكثر الأمراض انتشاراً في كل المناطق .

٢. كانت أكثر الممرضات الفطرية المعزولة تكراراً عند العزل من تبقعات الأوراق المختلفة على النحو التـــالي *Alternaria alternate , Botrytis cinerea , Botrytis fabae , Stemphylium botryousum* .

٣. عزلت الفطريات والبكتريا القاطنة لسطوح الأوراق وقدرت أعدادها من عينـــات أخذت من ثلاثة مستويات مختلفة لأوراق النباتات صنف جيزة ٣ ، حيث كانـــت أعلى الأعداد البكتيرية من أوراق المنطقة الوسطى بعد ٩٠ يوماً ، بينما حـــصل على أعلى أعداد للفطريات من أوراق المنطقة السفلى والوسطى بعد ٩٠ يومـــاً في حين سجلت أقل أعداد للبكتيريا والفطريات من أوراق المنطقة العليا .

٤. تم دراسة التأثير التضادي لـــ ٤٤ عزلة فطرية و ٢٥ عزلة بكتيرية على فطـــر *Botryis fabae* في المعمل ، حيث أدت ١٠ عزلات بكتيريـــة و ٧ عـــزلات فطرية إلى تثبيط نمو الفطر *Botrytis fabae* وكانت العزلة (B11) *Bacillus subtilis* أقوى العزلات تثبيطاً لنمو فطر *B.fabae* .

٥. اختلف ١٣ عزلة فطرية وبكتيرية في مقدرتها على خفض درجة التلون وانتشار البقع المتكونة بفعل الفطر *Botrytis fabae* على الأوراق المفصولة في حـــين كانت بكتريا (B11) *Bacillus subtilis* أكثر العزلات فعالية في خفض تطور تكوين وتلون البقع .

٦. أدت معاملات رش المجموع الخضري ببكتيريـــا (B11) *Bacillus subtilis* والعامل الحيوي التجريبي إلى خفض شدة الإصابة لأمراض التبقع الـــشيكولاتي والصدأ وتبقع الأوراق الألترناري إلا أن المركب الحيوي Bioarc1 كان أكثـــر فاعلية في خفض شدة الإصابة لتلك الأمراض عن بكتيريا B11 .

٧. قيمت فعالية مركبات فوسفات البوتاسيوم الثنائية ، كلوريد الحديديك ، حـــامض الساليسيليك ، والإيثيفون وكبريتات الكوبلت (معاملات منفردة) ، سواء كمعاملة نقع البذور أو رش المجموع الخضري ، لمكافحة مـــرض التبقـــع الـــشيكولاتي باستخدام طريقة الأوراق المفصولة ، حيث أدت كل معاملات نقع البـــذور إلـــى خفض درجة التلون وانتشار البقعة المتكونة بفطر *Botrytis fabae* ، في حين أعطى رش المجموع الخضري تأثيراً أفضل من نقع البـــذور وكانـــت معاملـــة فوسفات البوتاسيوم الثنائية (٢٥ ملليمول) أكثر المعاملات تـــأثيراً فـــي تثبـــيط الإصابة بالفطر .

٨. خفضت كل معاملات نقع البذور شدة الإصابة بمرض التبقع الشيكولاتي بدرجة معنوية خلال موسمي زراعة متتالية ، وكانت المعـــاملات المنفـــردة حـــامض

الساليسيليك (١٠ ملليمول) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (٥٠ ملليمول) الأعلى في خفض شدة الإصابة ثم كلوريد الحديديك (٢٠ ملليمول) والإيثيفون (٥٠٠ جزء في المليون) على التوالي .

٩. أدى رش المجموع الخضري للفول البلدي مرتين بعد ٤٥ ، ٥٥ يوماً من الزراعة إلى خفض شدة الإصابة بمرض التبقع الشيكولاتي خلال موسمي الزراعة ، وخفضت معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية (٥٠ ملليمول) وكلوريد الحديديك (٢٠ ملليمول) شدة الإصابة بمرض التبقع الشيكولاتي بدرجة كبيرة خلال موسم النمو حتى ١٤٠ يوماً من الزراعة بالمقارنة بالنباتات غير المعاملة. وخفضت كل من معاملات حامض الساليسيليك (٢ ملليمول) والإيثيفون (١٠٠ جزء بالمليون) شدة الإصابة بمرض التبقع البني بدرجة كبيرة بالمقارنة بتأثيرها في التركيزات المنخفضة .

١٠.أعطت معاملات نقع البذور بفوسفات البوتاسيوم الثنائية ، كلوريد الحديديك والإيثيفون عند الجرعات العالية أعلى انخفاض (٥٠%) لشدة الإصابة لمرض الصدأ في كلا الموسمين ، تلاها معاملة حامض الساليسيليك في حين أعطت معاملة كبريتات الكوبلت تأثيراً طفيفاً على الإصابة بالصدأ .

١١.أدى رش المجموع الخضري بمعاملات الإيثيفون (١٠٠ جزء في المليون) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمول) إلى انخفاض شدة الإصابة بمرض الصدأ بنسبة ٦٠% حتى ١٤٠ يوماً من الزراعة ، بينما أظهرت معاملة كلوريد الحديديك (٥٠ ملليمول) درجة متوسطة في انخفاض مرض الصدأ (٢٧ – ٣٨%) في حين كانت الجرعات المنخفضة أقل تأثيراً .

١٢.كانت معاملة نقع البذور في فوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمول) هي الأفضل في خفض شدة الإصابة بمرض تبقع الأوراق الألترناري (٥٢ – ٥٤%) تلاها معاملة حامض الساليسيليك (١٠ ملليمول) في حين أعطت معاملات كلوريد الحديديك أو الإيثيفون عند التركيزات المرتفعة أفضل حماية مقارنة بالتركيزات المنخفضة .

١٣.أدى رش المجموع الخضري للفول البلدي بالإيثيفون (١٠٠ جزء في المليون) وفوسفات البوتاسيوم الثنائية (١٠٠ ملليمول) إلى انخفاض معنوي لمرض تبقع الأوراق الألترناري بنسبة تتراوح من ٣٨ – ٤٠% خلال موسمي الزراعة ، تلاها معاملات كلوريد الحديديك (٥٠ ملليمول) والإيثيفون (٥٠ جزء في المليون) .

١٤.أدى نقع البذور في معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية وكلوريد الحديديك إلى زيادة معنوية في طول النبات ، وكل من عدد الأوراق والأزهار والقرون للنبات وزيادة محصول البذور ووزن المائة بذرة .

١٥.أدى رش المجموع الخضري بفوسفات البوتاسيوم الثنائية أو الإيثيفون إلى زيادة معنوية في طول النبات ، وكل من عدد الأوراق والأزهار للنبات ، في حين أعطت معاملة فوسفات البوتاسيوم الثنائية أعلى زيادة في محصول البذور تلاها معاملة كلوريد الحديديك .

١٦.أدى العدوى بفطر *Botrytis fabae* إلى زيادة محتويات الفينول بالمقارنة بالنباتات غير المعداة ، في حين أظهرت معاملات رش المجموع الخضري زيادة في محتويات الفينول بدرجة أكبر عن معاملات نقع البذور ، وأدت معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية وكلوريد الحديديك أو الإيثيفون إلى زيادة كل من الفينولات الكلية والحرة والمرتبطة في النباتات المعداة بالمقارنة بالنباتات السليمة.

١٧.زاد نشاط إنزيم البيروأكسيديز في الأنسجة المصابة بالمقارنة بالأخرى غير المعداة والسليمة ، كما أعطت معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية وحامض الساليسيليك أعلى زيادة في نشاط إنزيم البيروأكسيديز بالمقارنة بالمعاملات الأخرى . وبصفة عمة أدت معاملات رش المجموع الخضري إلى زيادة كبيرة في نشاط إنزيم البيروأكسيديز بالمقارنة بمعاملة نقع البذور .

١٨.كان نشاط إنزيم بولي فينول أكسيديز أعلى في النباتات المعداة بفطر *Botrytis fabae* بالمقارنة بالنباتات السليمة ، وأعطت معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية أو حامض الساليسيليك سواء معاملة نقع البذور أو رش المجموع الخضري أعلى زيادة في نشاط إنزيم بولي فينول أوكسيديز تلاها معاملات كلوريد الحديديك أو الإيثيفون .

١٩.أظهر التحليل البروتيني للنباتات المعاملة والمعداة بالفطر *B.fabae* باستخدام جهاز الفصل الكهربي على رقائق البولي أكريل أميد وجود حزم بروتينية جديدة مختلفة في بعض المعاملات الكيماوية كاستجابة للإصابة وكان عدد الحزم البروتينية في معاملات رش المجموع الخضري أقل عما هو في معاملات نقع البذور .

٢٠.أظهرت الطرز الحزمية لإنزيم بيروأكسيديز باستخدام جهاز الفصل الكهربي على رقائق البولي أكريل أميد وجود اختلاف في كل من كثافة وشدة الحزم بالإضافة إلى ظهور حزم جديدة لمشابهات إنزيم بيروأكسيديز وذلك في معاملات فوسفات البوتاسيوم الثنائية أو كلوريد الحديديك ، وحامض الساليسيليك كان على حدى سواء نقع البذور أو رش المجموع الخضري .

سادساً : الاتجاهات الحديثة لمكافحة بعض فطريات التربة الممرضة على الفلفل في الأراضي المستصلحة

رسالة مقدمة من الطالبة / عبير المرسي أحمد الحديدي للحصول على درجة دكتور فلسفة في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس تحت إشراف أ.د. مديح محمد علي ، د. أحمد أحمد موسى ، د. أحلام محمود جويلي عام ٢٠٠٣ .

يعتبر محصول الفلفل من محاصيل الخضر الباذنجانية الهامة في مصر والذي يصاب بالعديد من الممرضات الفطرية الكامنة بالتربة والتي تسبب أمراض عفن الجذور والذبول . وتعتبر تلك الأمراض أمراضاً خطيرة حيث تسبب خسائر شديدة في محصول وجودة الفلفل النامي تحت نظم الزراعة المختلفة في جمهورية مصر العربية .

استهدفت هذه الدراسة حصر أمراض عفن الجذور والذبول في بعض مناطق الاستصلاح بجمهورية مصر العربية وتعريف مسبباتها المرضية ، ودراسة بعض الاتجاهات الحديثة لمكافحة تلك الأمراض دون الاعتماد على المبيدات الكيماوية بدرجة أساسية للتقليل من تلوث البيئة والتأثير الضار لاستخدام المبيدات على الإنسان والحيوان .

ويمكن إيجاز النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة في النقاط التالية :

١. أوضحت نتائج الحصر أن أمراض عفن الجذور والذبول كانت أكثر وجوداً في العروة الصيفي عن العروة الصيفي المبكرة في المناطق المستصلحة ، حيث تراوحت نسبة المرض بين ١٢ – ٥٤% وكانت أعلى نسبة إصابة للفلفل بتلك الأعراض بعفن الجذور والذبول بمناطق القصاصين والخطاطبة والتل الكبير وأقلها سجلت بالعريش .
٢. كانت أفضل الفطريات المعزولة من البادرات والنباتات المصابة هي فيوزاريوم أكسيسبورم ، بيثيوم أفانيدرماتم ، ريزوكتونيا سولاني و سكلورشيم رولفزياي .
٣. أظهر اختبار القدرة المرضية للفطريات المعزولة قدرتها على إحداث موت لبادرات الفلفل وسببت فطريات ريزوكتونيا سولاني وبيثيوم أفانيدرماتم وفيوزاريوم سولاني أعلى نسبة موت بادرات وعفن للجذور بينما سببت عزلة رقم ٢ للفطر فيوزاريوم أكسيسبورم أعلى نسبة ذبول على النباتات الكبيرة وذلك بعد ٨ أسابيع من الشتل .
٤. أدت معاملة شتلات الفلفل ببعض المحثات الكيماوية للمقاومة إلى خفض الإصابة بمرض الذبول الفيوزاريومي ، بينما لم تؤثر معنوياً في الإصابة بعفن الجذور .

٥. أدى نقع شتلات الفلفل في محلول تركيزه ٢,٥ ملليمول لحامض السليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين ٠,٥% وذلك لمدة ١٠ دقائق قبل الشتل مباشرة إلى خفض الذبول الفيوزاريومي بدرجة كبيرة .

٦. أدى رش شتلات الفلفل بمحلول تركيزه ٥٠ ملليمول لفوسفات البوتاسيوم الثنائية وذلك قبل الشتل بمدة ١٢ ساعة إلى خفض الذبول الفيوزاريومي بحوالي ٦٥% بالمقارنة بالغير معامل متبوعاً بمعاملات الإثيريل وحامض السليسيليك .

٧. أدى رش نباتات الفلفل بفوسفات البوتاسيوم الثنائية ٥٠ ملليمول إلى زيادة الوزن الغض والجاف للنبات بالإضافة إلى محتوى النبات من الكلوروفيل الكلي وكذلك محصول الثمار تحت ظروف تجارب الأصص .

٨. تم إجراء عد كلي وعزل لبكتريا وفطريات المجال الجذري لستة أنواع نباتية نامية في حقول بمنطقة مريوط بالساحل الشمالي (التابعة لمركز بحوث الصحراء) ، ولقد أظهر العد الكلي للبكتريا أعلى معدل في المجال الجذري للبرسيم الحجازي يتبعه الشعير ثم الذرة ، بينما أظهر العد الكلي للفطريات أعلى معدل في المجال الجذري للخردل ثم الفلفل .

٩. تم الحصول على ٦٥٩ عزلة بكتيرية و٢٢ عزلة فطرية من المحاصيل المختلفة وذلك في مزارع نقية ، حيث تم اختبارها بالإضافة إلى ٤ عزلات فطرية وبكتيرية ذات قدرة تضادية معروفة معزولة من البيئة المصرية ، وذلك لتأثيرها التضادي تجاه الفطريات الثلاث المسببة لعفن الجذور والذبول في الفلفل . أظهرت ٢٣ عزلة فقط تأثيراً تضادياً سواء بدرجة متوسطة أو كبيرة أو تطفلاً علوياً لميسيليوم أي من تلك الممرضات .

١٠. تم عمل تقييم حيوي لتلك العزلات باستخدام طريقة أطباق التربة حيث أظهرت ٣ عزلات بكتيرية هي : سيدوموناس فلوروسينس (BA1) ، بلكورداريا سيباسيا (K1) والعزلة (MU3) وكذلك العزلات الفطرية ترايكودرما هاريزيانم (Th5)، والعزلتان (GA7 , AL25) قدرة على اختزال موت البادرات الناشئ عن الفطريات الثلاثة الممرضة . أدت معاملة بذور الفلفل بعزلة سيدوموناس فلوروسينس (BA1) إلى زيادة الوزن الجاف للبادرات بحوالي ١٤% .

١١. تم انتقاء ٦ عزلات بكتيرية وفطرية مضادة وتقييمها لمقاومة عفن الجذور والذبول في تجارب الأصص حيث كان أكثرها فاعلية سيدوموناس فلوروسينس (BA1) ثم ترايكودرما هاريزيانم (Th5) ، والتي أدت إلى خفض الإصابة بمعدل ٧٥% أو أكثر . كما أدت معاملة الشتلات بأي من هاتين العزلتين إلى زيادة في الوزن الغض والجاف لنباتات الفلفل المعاملة والمزروعة في تربة خالية من الممرض .

١٢.أدى تطبيق استخدام العزلتان سيدوموناس فلوروسينس (BA1) وترايكودرما هاريزيانم (Th5) كمعاملة لشتلات الفلفل قبل الزراعة مباشرة في الحقل إلى اختزال حدوث الإصابة بعفن الجذور والذبول ، وكانت عزلة (Th5) ذات تأثير أكبر في خفض المرض وكذلك في زيادة نمو النبات ومحصول الثمار الناتج .

١٣.أدت معاملة شتلات الفلفل بسيدوموناس فلوروسينس (BA1) وترايكودرما هاريزيانم (Th5) إلى اختزال كثافة أعداد فطريات فيوزاريوم أكسيسبورم وريزوكتونيا سولاني وبيثيوم افانيدرماتم بالتربة وذلك بعد ٤٥ يوم من الشتل .

١٤.أدى إضافة بعض المخلفات الجافة لمحاصيل البرسيم الحجازي والكرنب والشلجم والثوم بمعدل ٥ أو ١٠ جرام لكل كيلوجرام تربة بالأصص لتأثيرات متفاوتة في خفض الإصابة . حيث أعطى الثوم والشلجم بمعدل ١٠ جرام لكل كيلوجرام تربة أقل إصابة بعفن الجذور والذبول .

١٥.أدى تطبيق استخدام معاملات التسميد الأخضر بمحاصيل البرسيم الحجازي ، الشلجم والثوم والخردل تحت ظروف الحقل بمنطقة مريوط إلى اختزال نسب الإصابة بالذبول وعفن الجذور وكانت أكثر المعاملات فاعلية هي الشلجم والثوم متبوعة بالخردل .

١٦.أدت معاملة التسميد الأخضر بالبرسيم الحجازي أو الخردل إلى زيادة في الوزن الغض والجاف للنباتات إضافة إلى زيادة محتواها من الكلوروفيل الكلي وكذلك زيادة محصول الثمار بدرجة معنوية بالتربة الغير معدية بالممرضات قياساً بمعاملة المقارنة .

١٧.أدت جميع معاملات التسميد الأخضر إلى زيادة الأعداد الكلية للبكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات بالتربة ، كما أدت إلى اختزال كثافة أعداد الفطريات الممرضة فيوزاريوم أكسيسبورم ، وريزوكتونيا سولاني ، وبيثيوم افانيدرماتم وذلك بعد ٣٠ يوم من الشتل .

١٨.أظهر التقدير الكيميائي الكمي الأول لنباتات التسميد الأخضر أن البرسيم الحجازي يحتوي على تينينات وريشينات وسابونينات وقلويدات ، بينما الكرنب والثوم والخردل يحتوي كل منهما على تينينات وريشينات والقلويدات . بينما يحتوي الشلجم على تينينات وريشينات وفلافينات وقلويدات .

١٩.أظهرت المستخلصات النباتية تفاوتاً في تأثيرها على نمو الفطريات الثلاثة الممرضة المختبرة معملياً على أطباق الآجار حيث كانت هناك علاقة موجبة بين التأثير التثبيطي لتلك المستخلصات والتركيز المستخدم منها . اختزل المستخلص الكلوروفورمي للنيم والثوم من نمو تلك الممرضات ، بينما أظهر مستخلص الكحول الإيثيلي ٧٠% لنباتات الشلجم والكرنب أعلى تأثير تثبيطي .

سابعاً : المقاومة المستحثة لمرض الذبول في البطيخ المتسبب عن الفطر فيوزاريوم أكسيسبورم نيفيوم

رسالة مقدمة من السيد / فريد عبد الكريم إبراهيم للحصول على درجة الماجستير في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ١٩٩٣ تحت إشراف أ.د. محمد فوزي حجازي ، و أ.د. مديح محمد علي .

يعتبر البطيخ من محاصيل الخضر الهامة في مصر وقد بلغت المساحة المنزرعة عام ١٩٩٢ حوالي ٧٢٤٧٠ فدان أعطت ٧٠٩٢١٠ طن محصول ثمار وتزرع بعض أصناف البطيخ في مساحات مختلفة في الأراضي المستصلحة حديثاً للحصول على البذور المأكولة (بطيخ اللب) . ويصاب البطيخ بالعديد من الأمراض أهمها مرض الذبول الفيوزاريومي الذي يعتبر العامل المحدد للإنتاج في كثير من مناطق الزراعة .

للحد من استخدام المبيدات ومالها من آثار ضارة على الإنسان والبيئة ونظراً لعدم كفاءتها في مقاومة مرض الذبول وعدم وجود أصناف مقاومة في مصر . فقد صمم هذا البحث لمكافحة المرض بإتباع وسيلة الحث على المقاومة في نباتات البطيخ ضد مرض الذبول واختبرت عدة مستحثات بيولوجية وأخرى كيماوية ورد فعل العائل نتيجة استخدام عوامل الحث .

وتتلخص النتائج في الآتي :

١. اختبرت ثلاث فطريات ممرضة لنباتات العائلة القرعية وتصيب الأجزاء الهوائية وهى Stemphylium sp. , Bolrylis cinerea , Alternarla alternate إذ عوملت بذور البطيخ النابتة بمعلق جراثيم الفطريات سابقة الذكر بتركيز ١٠^٦ جرثومة / مل لمدة ٢٤ ساعة ثم الزراعة . وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة الفطر Stempliylium sp. .

٢. أختبرت ثلاثة أنماط غير ممرضة من Fusarium osxysporum وهم F.O cucmerinum , F.O. melonis , F.O. niveum race O وقد وجد أنه مع الصنف جيزة ١ كانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة F.O. cucumerinum , F.O. nlveum race O إذ تم اختزال المرض بمقدار ٦٩ و ٦٤% على الترتيب أما مع الصنف جورما فكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة F.O. melonis , F.O. cucmerinum إذ اختزلنا المرض بمقدار ٧٣% على الأقل .

٣. اختبرت ثلاث تركيزات من معلق الجراثيم ١٠^٥ و ١٠^٦ و ١٠^٧ / مل وثلاث فترات زمنية بين الحث واختبار المناعة وهى ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعة وأثبت

التحليل الاحصائى أنه لا فرق معنوى بين التركيزات الثلاثة وكذلك بين الفترات المختلفة فى تأثيرها على المقاومة المستحثة فى البطيخ .

٤. اختبرت ٤ تركيزات من مادة الاثيفون وهم ٤٠٠ و ٦٠٠ و ٨٠٠ و ١٠٠٠ جزء / المليون كنقع للبذور لمدة ٢٤ ساعة وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها مع التركيزات ٤٠٠ و ٦٠٠ و ٨٠٠ جزء / المليون بالنسبة للصنف جيزة ١ حيث أدت انخفاض نسبة حدوث المرض بمقدار ٦٨,٨% و ٧٧,٨% و ٨٠% على الترتيب أما بالنسبة للصنف جورما فكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة التركيز ٨٠٠ جزء / المليون يليه التركيز ٦٠٠ جزء / المليون حيث اختزلا المرض بمقدار ٧٥% فى المتوسط .

٥. اختبرت ثلاث تركيزات من الكوبلت وهى ٠,٢٥ و ٠,٥٠ و ١,٠٠ جزء / المليون وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة التركيز ٠,٥٠ جزء / المليون لكلا الصنفين وأثبت التحليل الاحصائى أن استجابة الصنف جيزة ١ بالنسبة للمقاومة بواسطة الكوبلت تفوق بكثير استجابة الصنف جورما إذ اختزل المرض مع الصنف جيزة ١ بمقدار ٧٨% بالمقارنة بـ ٥٠% للصنف جورما .

٦. بعد نهاية تجارب الأصص تم انتخاب أفضل المعاملات حثاً على المقاومة وتقييم تأثيرها على نسبة حدوث المرض وطول الجذر والساق والوزن الرطب والجاف للساق والجذر والصبغات النباتية وأثبت التحليل الاحصائى ما يلى :

أ – لا يوجد فرق معنوى بين المعاملات المختارة فى تأثيرها على نسبة حدوث المرض .

ب– لا يوجد أى تأثير سلبى على جميع الصفات الخضرية من المعاملات المنتخبة .

ج – أعطت المعاملات الكيماوية الايثفون ٦٠٠ جزء / المليون والكوبلت ٠,٥٠ جزء / المليون تأثيرات إيجابية بالنسبة لطول الساق بالمقارنة بالنباتات الغير معداه .

د – الايثفون ٦٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون والكوبلت ٠,٥٠ جزء فى المليون F.O. cucumerinum أعطت قراءات إيجابية بالنسبة للوزن الرطب للمجموع الخضرى بالمقارنة بالنباتات المنزرعة فى تربة غير معداه .

هـ– بالنسبة للصبغات النباتية لم تسجل أى تأثيرات سلبية من معاملات الحث المنتجة بينما سجلت المعاملة F.O. niveum race O والايثفون ٦٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون تأثيرات إيجابية بالنسبة للكلوروفيل (A) بالمقارنة بالنباتات المنزرعة فى تربة غير معداه .

٧. عند دراسة رد الفعل المصاحب للمقاومة المستحثة تم تقدير نشاط إنزيم الشنتنبر قبل العدوى وبعد العدوى بــــ ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعة .

وأوضحت النتائج ما يلى :

أ – سجلت كل معاملات الحث زيادة معنوية فى نشاط إنـــزيم الـــشنتنبر بالمقارنـــة بالنباتات غير المعاملة وذلك قبل العدوى وكانت المعاملة الاثيفون ٨٠٠ جزء / المليون و F.O. niveum raca O أكثر تحفيزا على زيادة النشاط الانزيمـــى تليها المعاملة F.O. cucumorinum , Stemphulium sp .

ب– بعد العدوى زاد النشاط الانزيمى فى كل معاملات الحث الكيماوى زيادة معنوية وبعد ٧٢ ساعة كان النشاط الانزيمى فى كل معاملات الحث أعلى منـــه فـــى الغير معامل وقد سجل أكثر نشاط مع الايثفون ٨٠٠ جزء / المليون يليه F.o. cucumerinum والكوبلـــت و F.O. niveum raca O وأقـــل نـــشاط مـــع Stemphylium sp. .

٨. تم انتخاب ٦ معاملات من تجارب الأصص لتطبيقها فى قرية العباسية محافظة كفر الشيخ لمدة موسمين ١٩٩١ و ١٩٩٢ مع الصنف جيزة ١ وهما الايثفـــون ٦٠٠ و ٨٠٠ جزء / المليـــون والكوبلـــت ٠,٥٠ جـــزء / المليـــون و F.O. niveum race O و F.O. cucumerinum و Stemphylium وفى الموسم الأخير تم إضافة البنليت (Benlate) كنفع للبـــذور بـــالتركيز الموصـــى بـــه للمقارنة وقد تماثلت النتائج فى الموسمين وهى على النحو التالى :

أ – بالنسبة لحدوث المرض كان أفضل المعاملات المتحصل عليها بواسطة ايثفـــون ٦٠٠ و ٨٠٠ جزء / المليون والكوبلت و F.O cucumerinum ٠,٥٠ جزء / المليون . تماثلت نتائج Stemphylium sp مع نتائج المعاملة بالبنليت .

ب– بالنسبة للقراءات الخضرية سجلت المعاملات الكيماوية بالإضافة إلى المعاملـــة F.O. cucumerinun زيادة معنوية فى طول المداد وكـــذلك عـــدد الأوراق بالنسبة للمداد وتلاها المعاملة F.O. niveum race O بينما كانـــت المعاملـــة Stemphylium sp أقل المعاملات تأثيرا إذ تساوت فى درجة المعنوية مـــع البنليت .

ج – بالنسبة لمحصول الثمار فقدرت فقط فـــى موســـم ١٩٩٢ وأتـــضح منهـــا أن معاملات الحث الكيماوية بالإضافة إلى F.O. cucumerinum أعطت زيـــادة ملحوظة فى عدد الثمار للنبات وكذلك محصول الثمار للنبـــات وعلـــى نفـــس المنوال سجلت تلك المعاملات أكبر أحجام للثمار بالمقارنة بباقى المعاملات .

٩. بالنسبة للصنف جورما فقط تم تطبيق نفس معاملات الصنف جيزة ١ باستثناء المعاملة F.O melonis بدل المعاملة F.O. niveum race O فى قرية الحسينى بمنطقة النوبارية محافظة البحيرة فى تجربتين اعتمدت الأولى على معاملات الحث فى مرحلة البذرة النابتة بينما فى الأخرى أجريت نفس المعاملة بالإضافة إلى معاملة تنشيطية لعملية الحث تمت بإجراء الرش بالكوبلت ٠,٢٥ جزء / المليون .

وتتلخص النتائج فى التجربتين فيما يلى :

أ – لم تحدث المعاملة بالكوبلت رشاً أى تأثير إضافى سواء فى اختزال نسبة الإصابة بالمرض أو فى كمية المحصول .

ب- المعاملات F.O. cucumerinum والايثفون ٦٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون أكثر المعاملات كفاءة فى اختزال المرض بينما كانت المعاملات كوبلت ٠,٥٠ جزء / المليون و F.O. melonis , Stemphylium sp لا يوجد فرق بينها وبين النيليت .

ج – بالنسبة للقراءات الخضرية سجلت معاملات الحث الكيماوية زيادة معنوية فى طول المداد وعدد الأوراق / المداد بالمقارنة بالنباتات الغير معاملة وسجلت أيضاً المعاملة F.O. melonis , F.O cucumerinum زيادة فى طول المداد وعدد الأوراق / المداد ولكنه أقل من سابقيهم .

د – بالنسبة لمحصول البذور فقد أدت معاملات الحث الكيماوى بالإضافة إلى F.Ocucumerium زيادة فى عدد الثمار للنبات وكذلك محصول الفدان من البذور . من ناحية أخرى تماثلت معاملتى Stemphylium sp F.O melonis مع تأثير المعاملة بالبنليت . وقد أدت معاملات الحث الكيماوية إلى زيادة امتلاء البذور كما أتضح ذلك من وزن ١٠٠ بذرة بمقارنتها بباقى المعاملات .

١٠.أدت معاملة شتلات الفلفل ببعض المحثات الكيماوية للمقاومة إلى خفض الإصابة بمرض الذبول الفيوزاريومى ، بينما لم تؤثر معنوياً فى الإصابة بعفن الجذور .

١١.أدى نقع شتلات الفلفل فى محلول تركيز ٢,٥ ملليمول لحامض السلسليك أو فوق أكسيد الهيدروجين ٠,٥% وذلك لمدة ١٠ دقائق قبل الشتل مباشرة إلى خفض الذبول الفيوزايومى بدرجة كبيرة .

١٢.أدى رش شتلات الفلفل بمحلول تركيزه ٥٠ ملليمول لفوسفات البوتاسيوم الثنائية وذلك قبل الشتل بمدة ١٢ ساعة إلى خفض الذبول الفيوزاريومى بحوالى ٦٥% بالمقارنة بالغير معامل متبوعاً بمعاملات الاثيريل وحامض السلسليك .

١٣.أدى رش نباتات الفلفل بفوسفات البوتاسيوم الثنائية ٥٠ ملليمول إلى زيادة الوزن الغض والجاف للنبات بالإضافة إلى محتوى النبات من الكلوروفيل الكلى وكذلك محصول الثمار تحت ظروف تجارب الأصص .

١٤.تم اجراء عدد كلي وعزل لبكتريا وفطريات المجال الجذرى لستة أنواع نباتية نامية فى حقول بمنطقة مريوط بالساحل الشمالى (التابعة لمركز بحوث الصحراء) ، ولقد أظهر العد الكلى للبكتريا أعلى معدل فى المجال الجذرى للبرسيم الحجازى يتبعه الشعير ثم الذرة ، بينما أظهر العدد الكلى للفطريات أعلى معدل فى المجال الجذرى للخردل ثم الفلفل .

١٥.تم الحصول على ٦٩ عزلة بكترية و ٢٢ عزلة فطرية من المحاصيل المختلفة وذلك فى مزارع نقية ، حيث تم اختبارها بالإضافة إلى ٤ عزلات فطرية وبكتيرية ذات قدرة تضادية معروفة معزولة من البيئة المصرية ، وذلك لتأثيرها التضادى تجاه الفطريات الثلاث المسببة لعفن الجذور والذبول فى الفلفل . أظهرت ٢٣ عزلة فقط تأثيراً تضادياً سواء بدرجة متوسطة أو كبيرة أو تطفلاً علوياً لميسيليوم أى من تلك الممرضات .

١٦.تم عمل تقييم حيوى لتلك العزلات باستخدام طريقة أطباق التربة حيث أظهرت ٣ عزلات بكتيرية هى : سيدوموناس فلوروسينس (BAI) ، بلكورداريا سيباسيا (KI) والعزلة (MU3) وكذلك العزلات الفطرية ترايكودرما هاريزيانم (TH5) والعزلتان (GA7 , AL25) قدرة على اختزال موت البادرات الناشىء عن الفطريات الثلاثة الممرضة . أدت معاملة بذور الفلفل بعزلة سيدوموناس فلوروسينس (BA 1) إلى زيادة الوزن الجاف للبادرات بحوالى ١٤% .

١٧.تم انتقاء ٦ عزلات بكتيرية وفطرية مضادة وتقييمها لمقاومة عفن الجذور والذبول فى تجارب الأصص حيث كان أكثرها فاعلية سيدوموناس فلوروسينس (BA1) ثم ترايكودرما هاريزياتم (TH5) والتى أدت إلى خفض الإصابة بمعدل ٧٥% أو أكثر . كما أدت معاملة الشتلات بأى من هاتين العزلتين إلى زيادة فى الوزن الغض والجاف لنباتات الفلفل المعاملة والمزروعة فى تربة خالية من الممرض .

١٨.أدى تطبيق استخدام العزلتان سيدوموناس فلوروسينس (BA1) وترايكودرما هاريزياتم (TH5) كمعاملة لشتلات الفلفل قبل الزراعة مباشرة فى الحقل إلى اختزال حدوث الإصابة بعفن الجذور والذبول ، وكانت عزلة (TH5) ذات تأثير أكثر فى خفض المرض وكذلك فى زيادة نمو النبات ومحصول الثمار الناتج .

١٩.أدت معاملة شتلات الفلفل بـ سيدوموناس فلوروسينس (BA1) وترايكودرما هاريزيانم (TH5) إلى اختزال كثافة أعداد فطريات فيوزاريوم اكسيسبورم ريزوكتونيا سولانى و بيثيوم افانيدر ماتم بالتربة وذلك بعد ٤٥ يوم من الشتل .

٢٠.أدى إضافة بعض المخلفات الجافة لمحاصيل البرسيم الحجازى والكرنب والشلجم والثوم بمعدل ٥ أو ١٠ جرام لكل كيلوجرام تربة بالأصص لتأثيرات متفاوتة فى خفض الإصابة حيث أعطى الثوم والشلجم بمعدل ١٠ جرام لكل كيلوجرام تربة أقل إصابة بعفن الجذور والذبول .

٢١.أدى تطبيق استخدام معاملات التسميد الأخضر بمحاصيل البرسيم الحجازى ، الشلجم والثوم والخردل تحت ظروف الحقل بمنطقة مريوط إلى اختزال نسب الإصابة بالذبول وعفن الجذور وكانت أكثر المعاملات فاعلية هى الشلجم والثوم متبوعة بالخردل .

٢٢.أدت معاملة التسميد الأخضر بالبرسيم الحجازى أو الخردل إلى زيادة فى الوزن الغض والجاف للنباتات إضافة إلى زيادة محتواها من الكلوروفيل الكلى وكذلك زيادة محصول الثمار بدرجة معنوية بالتربة الغير معدية بالممرضات قياساً بمعاملة المقارنة .

٢٣.أدت جميع معاملات التسميد الأخضر إلى زيادة الأعداد الكلية للبكتريا والفطريات والأكتينوميسيتات بالتربة ، كما أدت إلى اختزال كثافة أعداد الفطريات الممرضة فيوزرايوم اكسيسبورم ، ريزوكتونيا سولانى ، وبيثيوم افانيدرماتم وذلك بعد ٣٠ يوم من الشتل .

٢٤.أظهر التقدير الكيميائى الكمى الأولى لنباتات التسميد الأخضر أن البرسيم الحجازى يحتوى على تينينات وريشينات وسابونينات وقلويدات ، بينما الكرنب والثوم والخردل يحتوى كل منهما على تينينات وريشينات والقلويدات . بينما يحتوى الشلجم على تنينات ورشينات وفلافينات وقلويدات .

٢٥.أظهرت المستخلصات النباتية تفاوتاً فى تأثيرها على نمو الفطريات الثلاثة الممرضة المختبرة معملياً على أطباق الآجار حيث كانت هناك علاقة موجبة بين التأثير التثبيطى لتلك المستخلصات والتركيز المستخدم منها . اختزل المستخلص الكلوروفورمى للنيم والثوم من نمو تلك الممرضات ، بينما أظهر مستخلص الكحول الايثيلى ٧٠% لنباتات الشلجم والكرنب أعلى تأثير تثبيطى .

ثامناً : دراسات على آليات المقاومة المستحثة لمرض الذبول الفيوزاريومى من البطيخ

رسالة مقدمة من السيد / عماد الدين على مصطفى جادو للحصول على درجة الماجستير فى العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ١٩٩٧ تحت إشراف أ.د. مصطفى حلمى مصطفى و أ.د. درية إبراهيم حرفوش ، د. أحمد أحمد موسى .

يعتبر مرض ذبول البطيخ المتسبب عن الفطر Fusarium oxysporum f.sp niveum واحد من أخطر الأمراض التى تهاجم نباتات البطيخ ويصعب مقاومتها تحت ظروف الحقل . أجريت هذه الدراسة بغرض اختبار وانتخاب بعض العوامل التى تؤدى لجعل النبات أكثر مقاومة لمسبب المرض وكذلك دراسة آلية فعل هذه العوامل لمقاومة المرض . ويمكن إيجاز النتائج المتحصل عليها فى النقاط التالية :

١- أمكن عزل الفطر Fusarium oxysporum من العينات التى ظهرت عليها أعراض المرض ، وطبقاً للصفات الشكلية والمدى العوائلى للفطر ثبت أنه Fusarium oxsporum f.sp. niveum .

٢- تحت ظروف الصوبة ، وفى وجود المسبب المرضى اختبرت عدة عوامل حية مثل الفطرين Botrytis cinerea , Stemphylium botryosum والبكتريا (Pseudomonas fluorescens) وأخرى غير حية (الأثيفون ، حمض الساليسيليك ، الفانيلين ، فوق أكسيد الهيدروجين ، أيونات الكوبلت على صورة كبريتات الكوبلت) كما تم دراسة تأثير هذه المعاملات على الخواص الشكلية للنباتات وقد أختبرت جميعها عن طريقة معاملة البذور المستنبتة بها .

٣- ثبت أن الفطرين المختبرين لم يكن لهما أثر فى مقاومة المرض .

٤- مادتى الأثيفون والفانيلين قد استبعدا من الدراسة اللاحقة وذلك لأن الأثيفون أثر سلباً على البادرات أما الفانيلين فلم يعطى نتائج مرضية فى المقاومة بالإضافة لأثره السيىء على نمو الجذور المعاملة .

٥- أظهر حمض السالسيليك وفوق أكسيد الهيدروجين والكوبلت أثر فعال فى إحداث المقاومة ضد مرض الذبول الفيوزاريومى وذلك فى أربعة تجارب منفصلة . كما أبدت البكتريا P.fluorescens فاعلية فى مقاومة المرض لم تقل عن المعاملة بالعوامل الغير حية .

٦- يوضع البذور النابتة المعاملة بأى من حمض الساليسيليك أو فوق الهيدروجين أو الكوبلت على الفطر النامى على وسط آجار الزابك ثبت أن المعاملة أدت لجعل جذور النباتات مقاومة لأثر الفطر المحلل بالمقارنة بالبذور غير المعاملة والتى شوهت جذورها تماماً فى مدى ٢٤ ساعة مما يؤكد على الدور الذى يمكن أن تلعبه هذه المواد فى التأثير على بناء الجدار فى خلايا الجذور .

٧- درست الخواص الشكلية للبادرات النامية تحت تأثير هذه المواد وقد لوحظ سرعة نمو البادرات وسرعة ظهور الأوراق الفلقية ونمو السويقة الجنينية السفلى بالمقارنة بالغير معاملة حيث لم يظهر فيها سوى الجذر . وقد اختلف المظهر الشكلى للجذور فى حالة المعاملة حيث ظهرت مجموعة من الجذور الجانبية على طول محور الجذر ولم تشاهد مثل هذه الجذور فى حالة المقارنة.

٨- يعمل قطاعات فى قاعدة السويقة الجنينية السفلى وفحصها بالميكروسكوب الضوئى ، ثبت أن المعاملة بأى من حمض الساليسيليك أو فوق أكسيد الهيدروجين والكوبلت سببت الكثير من التأثيرات على التركيب التشريحى . فقد زاد سمك طبقة القشرة مع زيادة عدد أوعية الخشب وأقطارها إلا أن اللافت للنظر هو النشاط العالى لخلايا الكامبيوم ما بين الأوعية ، حيث أدى تنشيط أنقسامه بسبب المعاملة . وليس بسبب تعرض النبات للفطر بظهور أربعة صفوف من الخلايا ، وقد لوحظ ظهور تركيب مغلظ الجدار فى أحد القطاعات.

٩- باستخدام الميكروسكوب الالكترونى لفحص القطاعات فائقة الدقة من قاعدة السويقة أن التفاعلات الرئيسية للمقاومة لم تظهر إلا فى حالة العدوى بالفطر بالمقارنة بغير المعاملة . لوحظ زيادة كبيرة فى ترسيب مركبات غير عادية فى أماكن تواجد الفطر ومناطق مثل منطقة الأبوبلاست . كما أن ترسيب المركبات الداكنة الكترونياً فى هذه المواقع يوضح أن هذه المواد تعمل على الحد من نمو الفطر داخل النسيج ويعتقد أن هذه المواد هى مواد ذات طبيعة فينولينية أو نواتج تأكسدها (الكيتونات) .

١٠- المواد اللويفية والكروية التى لوحظت بكثافة حول الفطر وكانت دائماً مصاحبة للتغيرات الشكلية التى تحدث للفطر فى داخل الأنسجة وعلى الأخص تحليل جدار الفطر .

١١- قدر نشاط الإنزيمات المؤكسدة فى مستخلصات النباتات تحت تأثير المعاملات الطردية للمقاومة . وقد لوحظ الاختفاء التام لنشاط كل من إنزيمى البولى فينول أوكسيديز والكتاليز وكان إنزيم بيروكسيديز هو الأكثر فاعلية ونشاطاً .

١٢-وجد أن نشاط البيروكسيديز كان عالياً فى النباتات المقاومة تحت تأثير المعاملة باستثناء المقاومة فى حالة المعاملة بالبكتيريا .

١٣- درس النشاط الأيزوزيمى لإنزيم البيروكسيديز باستخدام طريق الفصل الكهربائى مزدوج الاتجاه . وقد وجد خمسة مشابهات إنزيمية فى مستخلص بادرات البطيخ كما لم يلاحظ وجود أى مشابهات إضافية فى حالة النباتات المقاومة . كانت كثافة الحزم فى حالة النباتات الذابلة أكثر وضوحاً بالمقارنة بالمقاومة فى حالة المعاملة بالبكتريا .

١٤- بدراسة النظام البروتينى الذائب باستخدام طريقة الفصل الكهربائى على شرائح الأكريلاميد وجد أن المعاملة بكبريتات الكوبلت أدت إلى زيادة عدد حزم البروتين الذائب بالمقارنة بغير المعاملة تلتها المعاملة بحمض الساليسليك . ظهر ثلاثة حزم بروتينية ذات الأوزان الجزيئية ٦٧,٥ ، ٦٩ ، ٧٠,٥ كيلو دالتون كعلامات لنباتات البطيخ وقد أدت المعاملة بالعوامل المحدثة للمقاومة لحدوث تغيرات كبيرة للنظام البروتينى بغض النظر عن أنها حقنت بالفطر أو لم تحقن كما لم يتضح وجود أى حزم خاصة بحدوث المقاومة تحت أثر المعاملات .

تاسعاً : الحث على المقاومة ضد بعض الأمراض التى تصيب نباتات الخيار المنزرعة تحت ظروف الصوب

رسالة مقدمة السيد / فريد عبد الكريم إبراهيم للحصول على درجة دكتوارة فى العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة جامعة عين شمس عام ١٩٩٨ تحت إشراف أ٠د٠ ولى الدين عاشور ، أ٠د٠ مديح محمد على ، أ٠د٠ محمد محمد محمد دياب.

يعتبر الخيار من أهم محاصيل الخضر التى تزرع فى مصر وتبلغ المساحة المنزرعة ٤٣٧٠٤ فدان تعطى ٣٢٨٢٢٨ طن من الثمار . ويزرع تحت الصوب البلاستيكية ٤٠٠٠ فدان . يصاب الخيار بالعديد من الأمراض أهمها البياض الزغبى والبياض الدقيق وأعفان الجذور والذبول . تعتبر استخدام المبيدات الكيماوية هى الوسيلة الأساسية فى مكافحة الأمراض داخل الصوب وللحد من استخدام المبيدات داخل الصوب لما لها من آثار ضارة على صحة الإنسان والبيئة فقد صمم هذا البحث لمكافحة أهم الأمراض المنتشرة على الخيار باستخدام وسيلة للحث على المقاومة .

فقد تم اختبار عدد من المستحثات البيولوجية والكيماوية فى تجارب الأصص وذلك بتقييم تأثيرها على مرض البياض الزغبى وذلك بإجراء المعاملة كنقع للبذور أو رشا على المجموع الخضرى فى مرحلة أول ورقة حقيقية وكذلك رد فعل العائل نتيجة استخدام عوامل الحث المختلفة .

وتتخلص النتائج فى الآتى :

١- اختبرت ثلاثة فطريات هوائية معزولة من المجموع الخضرى للخيار ممرضة أو غير ممرضة للعائلة القرعية وهى Alternaria alternate و Stemphylium botryosum , Curvlaria sp كمعاملة بذرة أو رشا على المجموع الخضرى فى مرحلة الورقة الحقيقية الأولى وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة الفطر A. alternate , S. botryosum .

٢- اختبرت اثنان من الأنماط غير المتخصصة على الخيار من Fusarium oxysporum وهما F.O.niveum , F.O. melonis وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة الفطر F.O. niveum .

٣- اختبرت ثلاثة تركيزات من مادة الأثيفون كنقع للبذور وهى ٤٠٠ ، ٦٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون وثلاث أخرى كرش على المجموع الخضرى فى مرحلة أول ورقة حقيقية وهى ٣٠٠ ، ٤٠٠ ، ٥٠٠ جزء / المليون وأوضحت النتائج أن معاملة الرش على المجموع الخضرى أعطت أفضل النتائج حيث اختزلت حدوث المرض بواقع ٦٥% على الأقل .

٤- اختبرت ثلاث تركيزات من الكوبالت وهى ٠,٢٥ و ٠,٥٠ و ١,٠٠ جزء / المليون كايون كوبالت كنقع للبذور أو رشا على المجموع الخضرى وأوضحت النتائج أن التركيز ٠,٠٥٠ جزء / المليون كان أفضل المعاملات اختزالا للمرض حيث أختزل نسبة حدوث المرض بواقع ٧٠% على الأقل .

٥- اختبرت ثلاث تركيزات من حمض الساليسيليك وهى ٢,٥ ، ٥,٠ ، ٧,٥ ملليمول كنقع للبذور أو رشا على المجموع الخضرى وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة ٥,٠٠ ملليمول كنقع للبذور أو رشا على المجموع الخضرى و ٧,٥ ملليمول كرش على المجموع الخضرى حيث اختزلت نسبة حدوث المرض بـ ٦٤% على الأقل .

٦- اختبرت ثلاثة تركيزات من حمض اسيتايل ساليسيليك كنقع للبذور وهى ٥ ، ١٠ ، ١٥ ملليمول وثلاث أخرى كرش على المجموع الخضرى وهى ٢,٥ ، ٥ ، ٧,٥ ملليمول وكانت أفضل النتائج المتحصل عليها بواسطة التركيز ٢,٥ ، ٥,٠ ملليمول رشا على المجموع الخضرى و ١٥ ملليمول كنقع للبذور حيث اختزلت المرض بواقع ٧٣% على الأقل .

٧- اختبرت ثلاث تركيزات من فوسفات البوتاسيوم ثنائية القاعدية رشا على المجموع الخضرى وهى ٥٠ ، ١٠٠ ، ١٥٠ ملليمول وكانت أفضل المعاملات هى ٥٠ ، ١٠٠ ملليمول حيث اختزلت المرض بنسبة ٧٤ على الأقل .

٨- اختبرت أفضل المعاملات المنتخبة على تجرثم الفطر P.cubensis وأوضحت النتائج أن هناك تأثير متوازى بين انخفاض نسبة المرض وتجرثم الفطر P.cubensis وكانت المعاملات الفوسفات ١٠٠ ملليمول وحمض اسيتايل ساليسيليك آسد وحمض الساليسيليك ٥,٠ ملليمول الأكثر تأثيرا فى تقليل عدد الجراثيم / سم٢ من الجزء المصاب .

٩- اختبرت تأثير المعاملة المزدوجة بكل من أفضل معاملات البذرة (إثيفون ٤٠٠ ، ٨٠٠ جزء / المليون) مع أفضل معاملات الرش على المجموع الخضرى (حمض اسيتايل ساليسيلك آسد ٢,٥ ، ٥ ملليمول) وأوضحت النتائج أنه لا يوجد تأثير إيجابى أو سلبى لاستخدام المعاملتين معاً بالمقارنة بكل معاملة على حدة.

١٠- اختبرت ٤ أصناف من الخيار السائد زراعتها تحت ظروف الصوب لدراسة مدى استجابتها للحث الكيماوى بالأثيفون والفوسفات وحمض اسيتايل ساليسيلك (أفضل المعاملات تحت ظروف الصوب التجارية) وأوضحت النتائج ما يلى : اختلفت الأصناف المختبرة في مدى استجابتها للحث على المقاومة حيث كان الصنف Effdal , Petostar أكثر بينما كان الصنف Rawa , Primo أقل استجابة .

١١- اختبرت أفضل المعاملات اختزالاً للبياض الزغبى وهى حمض اسيتايل ساليسليك ٥ ملليمول وحمض ساليسيلك ٥ ملليمول والفوسفات ١٠٠ ملليمول والأثيفون ٣٠٠ جزء / المليون والكوبلت ٠,٥ جزء / المليون و F.O. niveum في دراسة تأثيرها على مرض الذبول الفيوزاريومى وأوضحت النتائج ما يلى : جميع معاملات الحث الكيماوى أدت إلى اختزال نسبة حدوث مرض الذبول بحوالى ٧٥% بالمقارنة بالغير معامل .

١٢- عند دراسة رد فعل العائل نتيجة الحث على المقاومة تم تقدير إنزيمات البيروكسيديز والكيتيز والجلوكانيز قبل العدوى وبعد العدوى بـ ٢٤ ، ٤٨ ، ٩٦ ، ١٤٤ ساعة وكذلك تم تقدير اللجنين بعد العدوى بـ ١٠ أيام وأوضحت النتائج ما يلى :

أ - سجلت كل معاملات الحث زيادة معنوية فى نشاط الإنزيمات الثلاثة قبل العدوى وبعد العدوى سجلت معظم المعاملات زيادة إضافية فى النشاط مع الإنزيمين بيروكسيديز والجلوكاتيز واستمرت الزيادة إلى ١٤٤ ساعة بعد العدوى وكانت المعاملات حمض الساليسلك واسيتايل ساليسيلك والفوسفات والأثيفون أفضل المعاملات تحفيزاً فى نشاط الإنزيمات الثلاثة قبل العدوى وبعد العدوى بالمسبب المرض .

ب- سجلت كل معاملات الحث المختلفة زيادة معنوية فى اللجنين الكلى مقارنة بالغير معامل وكانت أكثر المعاملات تأثيراً على زيادة المحتوى من اللجنين هى حمض اسيتايل ساليسلك وحمض الساليسيلك والفوسفات .

١٣- تم انتخاب أفضل المعاملات فى تجارب الأصص (معاملة بـذرة أو معاملـة مجموع خضرى) لتطبيقها على نطاق تجارى فـى صـوب وزارة الزراعـة بمنطقة جزيرة الدهب فى أربع تجارب فى الفترة من ١٩٤٤ - ١٩٩٦ لاختيار أفضل المعاملات اختزالاً للأمراض وزيادة فى كمية المحصول وأسفرت عـن النتائج التالية : أثبتت معاملة المجموع الخضرى والمنـشطة بمعاملـة الـرش التنشيطى كفاءة عالية فى اختزال الأمراض وزيـادة كميـة المحـصول مـع المعاملات حمض اسيتايل ساليسيلك ٥ ملليمول والأثيفون ٣٠٠ جزء / المليون وفوسفات البوتاسيوم ١٠٠ ملليمول حيث أدت إلى اختزال نسبة حدوث مرض البياض الزغبى بنسب تتراوح من ٩٢ إلى ٦٤% مقارنة بالغير معامل واختزال مرض البياض الدقيقي بنسبة تتراوح من ١٠٠% واختزال مرض تعقد الجذور النيماتودى بنسب تتراوح من ١٠٠% إلى ٤٥% وأدت تلك المعـاملات إلـى زيادة كمية المحصول بمقدار يتراوح من ١٧٨% إلى ١٤٠ بالمقارنة بـالغير معامل ومن ١٣٤% إلى ١١٤% بالمقارنة بمعاملة المبيد .

١٤- بناء على ما تقدم فقد تم اختيار معاملات حمض اسيتايل ساليسلك ٥ ملليمول والأثيفون ٣٠٠ جزء / المليون وفوسفات البوتاسيوم ١٠٠ ملليمول وتم تطبيق كل مادة فى صوبة تجارية مستقلة ومقارنتها بالمعـاملات التجاريـة المعتـادة (برامج الرش بالمبيدات) الخاص بوزارة الزراعة وتم تقدير أمراض الـذبول الفيوزاريومى وأعفان الجذور والبياض الدقيقى وكمية المحـصول . وكانـت النتائج على النحو التالى : سجلت كل معاملات الحث المختلفة اختزالاً فى نسبة حدوث مرض الذبول الفيوزاريومي يقدر بحوالى ٧٧% بالمقارنـة بالمعاملـة الضابطة واختزالاً فى نسبة حدوث مرض البياض الدقيقى قـدره ٨٠% علـى الأقل بالمقارنة بالمعاملة الضابطة . فى حين لم تسبب إلا معاملـة الفوسـفات اختزالاً معنويا فى مرض أعفان الجذور . ومن ناحية أخرى سجلت المعاملات زيادة فى كمية المحصول تقدر بحـوالى ٦٠ إلـى ٢٠% مقارنـة بالمعاملـة الضابطة .

عاشراً : دراسة فاعلية المستخلصات الطبيعية والبيولوجية فى تنشيط ظاهرة المقاومة الجهازية المكتسبة فى العوائل النباتية ضمن إطار المكافحة المتكاملة للآفات

مشروع ممول من أكاديمية البحث العلمى والتكنولوجيا فى الخطة الخمسية ٢٠٠٢ – ٢٠٠٧ للباحث الرئيسى للمشروع أ.د. مصطفى حلمى مصطفى – أستاذ أمراض النبات – كلية الزراعة – جامعة عين شمس .

١- أعضاء الفريق البحثى		
أ.د. مصطفى حلمى مصطفى	باحث رئيسى	فسيولوجيا المقاومة للأمراض النباتية
أ.د. فوزى مرسى أبو العباس	باحث مناوب	أمراض فيروسية
أ.د. ناجى ياسين عبد الغفار		أمراض بكتيرية
أ.د. محمد سالم عبد الواحد		وقاية نبات
د. عماد الدين على مصطفى جادو		أمراض فطرية
د. حمدى محمد السعيد		وقاية نبات
د. أشرف بكرى عبد الرازق		وراثة وتكنولوجيا حيوية
أعضاء الفريق البحثى من الهيئة المعاونة		
السيدة / كريمة جابر حلمى	مدرس مساعد	أمراض فطرية
السيدة / رانيا صلاح الدين رشوان	مدرس مساعد	حشرات اقتصادية
السيدة / عفاف زين العابدين	مدرس مساعد	أمراض نبات بكتيرية
السيد / محمد أحمد محمد جابر	معيد	أمراض نبات بكتيرية

٢- المركبات المستخدمة فى الدراسة

١- حمض الايثايل ساليسليك ٠,١٢٥ مل / لتر .

٢- حمض الجاسمونيك ٠,١٢٥ مل / لتر .

٣- المستخلص المائى لشماريخ المانجو المشوهة (٧٥ جم / لتر) .

٤- محلول لبن جوز الهند ٢% .

٥- محلول الاجريسبون ١ مل / لتر .

٦- محلول السنكو سين ١ مل / لتر .

٣- إنجازات المشروع خلال الفترات السابقة

٣-١- إنجازات المشروع خلال الفترة ١٦ / ٢ / ٢٠٠٤ إلى ١٦ / ٨ / ٢٠٠٤

الفترة الأولى : حصر أهم الأمراض الفطرية التى تصيب البطاطس والطماطم

أثبت الحصر انتشار مرض اللفحة المتأخرة فى البطاطس والمتسبب عن Phytophthora infestans وذلك فى محافظات الغربية والدقهلية والشرقية والقليوبية وتم تنمية الكائن المسبب للمرض ودرست خواص المزرعة .

أثبت الحصر على الطماطم أن مرض عفن الجذور والتاج الفيوزارمى المتسبب عن الفطر Fusarium oxysporum f.sp. radicis lycopersia واسع الانتشار وكذا مرض اللفحة المتأخرة المتسبب عن ph.Infestans وعلى الأخص فى العروات الشتوية .

حصر أهم الأمراض البكتيرية التى تصيب البطاطس والطماطم

أثبت حصر الأمراض البكتيرية على البطاطس انتشار مرض الذبول البكتيرى المتسبب عن البكتيريا Ralstonla solanacearum فى جميع مناطق الزراعة بالدلتا أما بالنسبة لنباتات الطماطم فكان مرض التبقع البكتيرى على الأوراق والثمار المتسبب عن بكتيريا Xanthomonas compstris cv. Vesicatora واسع الانتشار فى زراعات الطماطم .

حصر أهم الأمراض الفيروسية التى تصيب البطاطس والطماطم

أثبت الحصر انتشار الفيروسات PRLV , PVY , PVX , PVM , PVS على زراعات البطاطس ، أما على نباتات الطماطم قد أمكن التعرف على فيروس تجعد الأوراق الصفراء فى الطماطم وموزايك الطماطم وموزايك الخيار CMV .

حصر وتعريف أجناس النيماتودا المتطفلة على البطاطس والطماطم

تم حصر الأمراض النيماتودية على الطماطم ، وقد ثبت الانتشار الواسع لنيماتودا تعقد الجذور المتسبب عن Meloidogyne incognita .

النباتات الزهرية المتطفلة

لوحظ فى محافظة الإسماعيلية ظهور إصابات بنباتات الهالوك ، جمعت وعرفت على أنها تنتمى لنوعين هما O. egyptiaca , Orbanche ramose .

حصر لأهم الآفات الحشرية على البطاطس والطماطم

أثبت الحصر انتشار حشرة المنّ على البطاطس والذباب الأبيض ، كما ثبت انتشار حشرة المنّ على الطماطم والذباب الأبيض .

٣-٢- إنجازات المشروع خلال الفترة الثانية من ١٦ / ٨ / ٢٠٠٤ إلى ١٦ / ٢ / ٢٠٠٥

إنجازات المشروع خلال الفترة من ٢٠٠٤/٨/١٦ إلى ٢٠٠٥/٢/١٦ خلال هذه الفترة ، تم التوصل للمستخلصات التى ستستخدم فى الدراسة وهى إيثايل حمض الساليسيليك (٠,١٢٥ مل / لتر) ، حمض الجاسمونيك (٠,١٢٥ مل / لتر) ، المستخلص المائى لشماريخ المانجو المشوهة (١٥٠ جم / لتر) ، محلول لبن جوز الهند (٢%) ، محلول الأجريسبون (١ مل / لتر) ومحلول السنكوسين (١ مل / لتر) .

من إنجازات هذه الفترة هو القدرة على الكشف عن الإصابات المتخفية فى درنات البطاطس لبكتيريا الذبول البكتيرى (العفن البنى) Rotstonia solanacearun وذلك باستخدام مستخلص نورات المانجو المشوهة كعامل يؤدى لظهور أعراض مماثلة لعرض الذبول البكتيرى فى درنات البطاطس بدقة عالية جداً .

فى هذه الفترة درس إمكانية مكافحة مرض الذبول البكتيرى (العفن الطرى) . وقد ثبت أن معاملة درنات البطاطس قبل زراعتها بحمض الجاسمونيك ولبن جوز الهند ومستخلص نورات المانجو المشوهة أدت إلى خفض شدة الإصابة بالمرض تحت ظروف العدوى الصناعية بالبكتريا المسببة للمرض ، وقد أدت هذه المعاملات لزيادة محصول درنات البطاطس وخفض إصابة الدرنات بالبكتريا المسببة للذبول البكتيرى .

درس خلال هذه الفترة تأثير المعاملات المختلفة بالمركبات سابقة الذكر على تعداد بعض حشرات رتبة نصفية الأجنحة والعنكبوت الأحمر على نباتات البطاطس .

أثبتت النتائج المتحصل عليها وجود تباين واضح فى تعداد حوريات الذباب الأبيض على نباتات البطاطس ، حيث لم يسجل وجود للحوريات على النباتات المعاملة يليه جوز الهند وحمض الجاسمونيك وحمض إيثايل ساليسليك وأدت المعاملة بالأجريسبون لزيادة تعداد الحوريات .

لوحظ كذلك انخفاض الكثافة العددية لحشرة نطاط أوراق البطاطس فى النباتات المعاملة مقارنة بالنباتات غير المعاملة . كما أدت المعاملات لانخفاض أعداد العنكبوت الأحمر نتيجة للمعاملات المختلفة مقارنة بالنباتات غير المعاملة .

تم التركيز فى هذا التقرير على دراسة تأثير المعاملة بالعوامل المستحثة المختلفة على إصابة نباتات البطاطس بالأمراض الفيروسية ، حيث تمت معاملة الدرنات وحقن أوراق النباتات الناتجة بفيروس PVY وتم تقدير شدة الإصابة بطريقة Double antibiotic sandwich ELISA (DAS) وقرأت النتائج باستخدام جهاز ELISA reading وقد أثبتت النتائج المتحصل عليها خفض الإصابة بالفيروسات وكذا الإصابة الناتجة عن فيروس التفاف الأوراق RLRV .

٣-٣- إنجازات المشروع خلال الفترة الثالثة ٢٠٠٥/٢/١٦ إلى ٢٠٠٥/٨/١٦

تم فى هذه الفترة اختبار مستخلصات نباتية ومستخلص الطحلب البنى Fucus وتوكسين الفطر Myrothecium verrucaria ومستخلص ميسليوم الفطر Phytophthora infestans وكذلك بعض الزيوت النباتية على إنبات جراثيم الفطر Botrytis allii وقدرتها على رفع نشاط إنزيم Peroxidase فى شرائح درنات البطاطس. وقد ثبت من النتائج المتحصل عليها أن كثير من المستخلصات والزيوت النباتية تؤدى لرفع نشاط إنزيم Peroxidse إلا أنها تؤدى فى نفس الوقت للتقليل أو منع إنبات جراثيم فطر الاختبار B.alii وبذلك لا يمكن استخدام أغلب هذه المواد كعوامل مستحثة لمقاومة الأمراض النباتية ، حيث أن الشرط الأساسى للمواد التى تستخدم للحث على المقاومة أن لا يكون لها أى تأثير على فطر الاختبار .

درس تأثير العوامل الكيماوية (إيثايل حمض الساليسليك وحمض الجاسمونيك) والعوامل النباتية (لبن جوز الهند ، مستخلص نورات المانجو المشوهة ، الأجريسبون وسنكوسين) على مرض عفن التاج والجذور الفيوزارمى فى الطماطم وهذا أحد الأمراض الشائعة الانتشار ، أثبتت النتائج أن معاملة جذور شتلات الطماطم قبل الزراعة بإيثايل حمض الساليسيليك ولبن جوز الهند ومستخلص نورات المانجو المشوهة ومحلول الأجريسبون ومحلول السنكوسين قد أدت لرفع متوسط وزن المجموع الجذرى لنباتات الطماطم المعاملة مقارنة بالمعدية بالفطر والغير معاملة .

فى هذا التقرير تم دراسة تأثير المعاملة بالمحفزات المناعية على مدى تقدم الإصابات الفيروسية بفيروس TMV المحقون به النباتات ورش النباتات بعد حقنها بالفيروس بالمحفزات المناعية .

ثبت من الدراسة أن رش نباتات الطماطم بإيثايل حمض الساليسيليك قد أدت لخفض عدد أوراق نباتات الطماطم المصابة بفيروس TMV إلى ٢٧,٣% مقارنة بالغير معامل وأن المعاملة السنكوسين وحمض الجاسمونيك الأجريسبون ولبن جوز الهند قد أدت تقليل عدد الأوراق المحتواة على الفيروس والتى أظهرت عرض الموزايك مقارنة بالنباتات غير المعاملة .

كما أدت المعاملة إيثايل حمض الساليسيليك السنكوسين الأجريسبون لخفض عدد البقع المحلية على نباتات Nicotiana glutinosa مما يؤكد على أن هذه المعاملات قد قللت من تركيز الفيروس فى أوراق النباتات المحقونة المعاملة مقارنة بالمحقونة الغير معاملة .

خلال هذه الفترة تركز الاهتمام كذلك على تأثير المعاملة بالمحفزات المناعية على إصابة نباتات الطماطم بمرض تعقد الجذور النيماتودى المتسبب عن نيماتودا Meloidogyne spp حيث تمت عددى التربة المعقمة بيرقات النيماتودا ، عوملت جذور الشتلات قبل الزراعة كما رشت النباتات بعد الزراعة بعوامل الحث على المقاومة .

وقد ثبت أن مستخلص نورات المانجو المشوهة قد تفوق فى تأثيره لمقاومة مرض تعقد الجذور النيماتودى عن مادة السنكوسين وهى المادة التى يوصى باستخدامها لمقاومة هذا المرض عالميا ، كما ثبت أن جميع عوامل الحث على المقاومة قد أدت لخفض شدة إصابة الجذور بمرض التعقد النيماتودى وعلى الأخص السنكوسين الأجريسبون وحمض الجاسمونيك وحمض إيثايل ساليسليك .

أدت معاملة نباتات الطماطم بالمحفزات المناعية للتأثير على أعداد حشرة الذبابة البيضاء على النباتات (تجارب أصص) . إلا أن محلول الأجريسبون أدى لرفع عدد الحشرات على الأوراق . كما وجد أن إيثايل حمض الساليسليك رشاً على النباتات قد أدى لخفض تعداد العنكبوت الأحمر مقارنة بالنباتات الغير معاملة .

٣-٤- إنجازات المشروع خلال الفترة الرابعة من ٢٠٠٥/٨/١٦ إلى ٢٠٠٦/٢/١٦

فى هذه المرحلة تم التركيز على تأثير المواد المحفزة لمناعة النبات تحت ظروف الحقل ، حيث اختبر حقلى البطاطس بقعاً فى منطقة الدير – شبين القناطر – محافظة القليوبية ، حيث تزرع البطاطس باستمرار وهى أحد المناطق الموبوءة بالأمراض والحشرات .

لذلك ، فقد تم رش نباتات البطاطس بالمحفزات المناعية المختلفة وتم تقدير شدة الإصابة بمرض الندوة المتأخرة ، والذبول البكتيرى (العفن البنى) والإصابات الفيروسية بالدرنات الناتجة وخص الحقل الآخر لدراسة الآفات الحشرية والعنكبوت الأحمر .

فيما يتعلق بمرض اللفحة المتأخرة المستبب عن Phytophthora infestans ثم أولاً تقدير متوسط عدد البقع / نبات مع بداية ظهور أعراض الإصابة بالمرض ، وقد ثبت من النتائج المتحصل عليها أن لبن جوز الهند ومستخلص نورات المانجو المشوهة قد أثبتتا فعالية عالية فى تقليل متوسط عدد البقع / نبات ، يليهم من حيث التأثير الأجريسبون ثم السنكوسين ثم إيثايل الساليسيليك وأقل معاملات تأثيراً هو حمض الجاسمونيك ، وبعد انتشار المرض تم تقدير شدة الإصابة النهائية . وقد أثبتت النتائج أن الرش بمستخلص نورات المانجو المشوهة ولبن جوز الهند قد أديا لانخفاض شديد فى شدة الإصابة مقارنة بالنباتات غير المعاملة وقد أعطى كل من محلول الأجريسبون ومحلول السنكوسين وحمض الجاسمونيك وحمض إيثايل ساليسيليك نتائج جيدة فى خفض شدة الإصابة بالمرض .

بالنسبة لمرض الذبول البكتيرى (العفن البنى) ، فقد أثبتت النتائج انخفاض النسبة المئوية للدرنات الحاملة لبكتريا الذبول البكتيرى Ralstonia solanacearum ، حيث بلغت فى المقارنة ٧٤% وفى حالة الرش بحمض الجاسمونيك ٥٧% وإيثايل ساليسيليك ٦٥% والأجريسبون ٥١% ولبن جوز الهند ٦١% ومستخلص نورات المانجو المشوهة ٤٨% . كما انخفضت كذلك شدة الإصابة وأثبت كل من حمض الجاسمونيك ومستخلص نورات المانجو المشوهة والأجريسبون كفاءة عالية فى خفض شدة الإصابة .

تم تقدير الإصابات الفيروسية بالدرنات بطريقة DAS – ELISA ، وقد أثبتت النتائج أن النسبة المئوية للدرنات الحاملة للفيروسات RLRV , PVY هى ٥٢,٩% و ٢٩,٤% على التوالى ، وقد ثبت أن رش نباتات البطاطس بالسنكوسين أو بحمض إيثايل ساليسليك أفضل النتائج ، حيث بلغت النسبة المئوية للدرنات الحاملة لفيروس PVY صفر % والحاملة لفيروس التفاف الأوراق ٥٩% ومن ناحية أخرى ، فقد ثبت أن الأجريسبون لم تسجل أية إصابة للدرنات للنباتات المعاملة به النسبة لفيروس PVY فى الحقل الآخر ، فى نفس المكان تم رش النباتات بالمعاملات المختلفة وتقدير أعداد الحشرات والعنكبوت الأحمر على فترات بدأت من ١ / ١ / ٢٠٠٦ م .

ثبتت أن رش النباتات بحمض الجاسمونيك السنكوسين قد أديا لخفض تعداد حوريات الذباب الأبيض بدرجة ملحوظة يليهم مستخلص نورات المانجو المشوهة تم حمض إيثايل ساليسليك والأجريسبون .

بالنسبة للحشرات الكاملة للذباب الأبيض ، فقد أثبتت النتائج أن رش النباتات بحمض إيثايل ساليسيليك أو السنكوسين أو الاجريسبون ولبن جوز الهند وحمض الجاسمونيك قد أدت لخفض تعداد الحشرة .

بالنسبة لتعداد حشرة المنّ ، فقد وجد أن رش النباتات بحمض إيثايل ساليسيليك أو السنكوسين أو لبن جوز الهند أو حمض الجاسمونيك قد أدت لخفض تعداد هذه الحشرة مقارنة بالعدد فى حالة النباتات غير المعاملة .

بالنسبة لتعداد الجاسيد (نطاط أوراق البطاطس) ، فقد أثبتت النتائج أن الرش بمحلول حمض إيثايل ساليسليك أو لبن جوز الهند أو محلول السنكوسين قد أدى لتقليل عدد نطاط الأوراق مقارنة بالنباتات غير المعاملة فى جميع فترات التقدير .

بالنسبة لتعداد الأكاروس ، فقد أدى رش النباتات بحمض إيثايل ساليسليك لحدوث خفض شديد فى عدد الأكاروسات على أوراق نباتات البطاطس . وقد أدى الرش بمحلول السنكوسين أو محلول الأجريسبون لخفض ذلك العدد معنوياً مقارنة بالنباتات غير المعاملة.

٣-٥- إنجازات الأجريسبون لخفض ذلك العدد معنوياً مقارنة بالنباتات غير المعاملة

فى هذه الفترة تركز الاهتمام على إمكانية تحفيز مقاومة الدرنات لمرض العفن الطرى البكتيرى المتسبب عن بكتريا Erwinia carotovora subsp. Carotovora . ونظراً لعدم وجود طريقة فعالة لمقاومة هذا المرض سوى استخدام المضادات الحيوية ، والذى قد يؤدى استخدامها على نطاق واسع لاكتساب البكتريا القدرة على مقاومة المضادات الحيوية .

لذلك ، تم ابتعاث مقاومة الدرنات عن طريق المعاملة ببخار إيثايل حمض الساليسيليك والذى أدى لاكتساب الدرنات المعاملة قدرة فائقة على مقاومة هذا المرض .

استخدام نفس المركب بغرض منع إنبات الدرنات أثناء التخزين وكذا إصابتها بالعفن الجاف الفطرى والعفن الجاف البكتيرى . ومن إنجازات هذه الفترة إمكانية منـــع تزريـــع الدرنات لمدة أربعة أشهر واكتسابها قدرة عالية على مقاومة الإصابة بمرض العفن الطرى البكتيرى والعفن الجاف الفيوزارمى المتسبب عن أنواع جنس Fusarium .

فى هذه الفترة بدأت دراسة قدرة المركبات المختلفة علـــى ابتعـــاث بنـــاء العوامـــل الكيموحيوية والجزيئية ذات العلاقة بابتعاث مقاومة النبات للأمراض ، واحد هذه العوامل الهامة هو القدرة على ابتعاث بناء الفيتوالكسينات فى النباتات .

ثبت أن حمض إيثايل ساليسليك قادر على ابتعاث بناء ثلاث مركبـــات ســـسكتربينية Sesquiterpene phytoalexin الأول ذو قيمـــة RF = ٠,١٧٥ وهـــو مركـــب غيـــر معروف ولم يسبق تسجيله ، والثانى ذو قيمة RF = 0.509 وهـــو المركـــب اللـــوبيمين والثالث ذو قيمة RF = 0.824 وهو الفيتوبرين . وجد أن حمض الجاسمونيك يبتعث بناء خمسة مركبات سسكتربينية ثلاثة منهم مجهولة وإثنان آخران هما لوبيمين والفيتـــوبرين . أدت معاملة درنات البطاطس بمحلول لبن جوز الهند لابتعاث بناء أربعة مركبـــات اثنـــان منهم مجهولة والثالث هو لوبيمين والرابع فيتوبرين .

أدى السنكوسين لابتعاث بناء أربعة مركبات أحدهم مادة مجهولة وثلاث مركبات هى الريشيتين ذو قيمة RF = 0.203 والاثنان الآخران هما لوبيمين وفيتوبرين .

أدى الأجريسبون لابتعاث بناء ثلاثة مركبات أحدهما مادة مجهولة والاثنان الآخران هما اللوبيمين وفيتوبرين .

أدى محلول مستخلص نورات المانجو المشوهة لابتعاث بناء مركبين هما لـــوبيمين وفيتوبرين .

ولم يسبق أن عرف أن المركبات المستخدمة فى الدراســـة ذو قـــدرة علـــى بنـــاء الفيتوالكسينات فى نباتات البطاطس من قبل ، وقد ذلك أول تسجيل على أن هـــذه المـــواد تعمل لـــ Elicitors لبناء الفيتوالكسينات فى البطاطس .

Reference

Bol, JF ; Linthorst , H.J.M. and Cornelissen , B.J.C. (1990) . plant pathogenesis – related proteins induced by virus infection . Annu . Rev . Phytopathology , 28 : 113 – 138

Evers , D ; C. Schweitzer , N. Nicot ; S. Gigliotti ; M.R. Herrera ; J.F. Hansman ; L. Hoffmann , B. Trognitz ; J. Dommes , M. Ghislain (2006) . Physiological and Molecular plant pathology , 67 : 155 – 163

Kuc , J. 1982 . Induced immunity to plant disease ; Bio Science 32 : 854 – 860

Matton , D.P. and Brisson N. (1989) . Cloning expression and sequence conservation of pathogenesis – related gene transcripes of potato Mol . Plant Microbe Interact . 2 : 325 – 331

Okuno , T , M. Nakayama , N. Okajima and I. Furusawa . (1991) . Systemic resistance to downy mildew and appearance of acid soluble proteins in cucumber leaves treated with biotic and abiotic inducers . Ann. Phytopathol . Soc . Jpn. 57 : 203 – 221

Swoboda , I ; Hoffmanusommergruber , K ; Oriordain G . Scheiner , O ; Heherlehors , E. and Vicento , O. (1996) BET VI proteins , the major birch pollen allergens and members of a family of conserved pathogenesis related proteins , show ribonuclease activity in titro physiol . plant , 96 : 433 – 438

Vivianne , G ; A.A. Vlesshouwers , W. Van Dooije – Weert , F. Govers , S. Kamoun and L. Cohen (2000) . Does basal PR gene expression in Solanum species coutribute to non – specific resistance to phytophthora infestans



الباحث الرئيسى والباحث المناوب يتوسطوا مجموعة من الفريق البحثى للمشروع

حادى عشر : " المقاومة المستحثة ضد أمراض محصول الفول البلدى "

رسالة مقدمة من السيد / محمد محمود مازن متولى للحصول على درجة الدكتوراه فى فلسفة العلوم الزراعية (أمراض نبات) من قسم النبات الزراعى – كلية الزراعة جامعة قناة السويس عام ٢٠٠٤ تحت إشراف : أ٠د٠ متولى على بركة ، أ٠د٠ سعيد أحمد محمد عمر .

يعتبر الفول البلدى من المحاصيل البقولية الهامة فى مصر ويزرع فى مساحات كبيرة فى العالم وهو ذو قيمة غذائية عالية للإنسان والحيوان ، حيث يحتوى على نسبة عالية من البروتين ويصاب الفول البلدى بعديد من الأمراض الفطرية أهمها التبقع البنى (الشيكولاتى) وأعفان الجذور التى تسبب نقصاً فى المحصول .

ويمكن تلخيص نتائج الدراسة فى النقاط التالية :

١- أوضحت نتائج الحصر خلال موسم ٢٠٠٠ – ٢٠٠١ فى ٧ محافظات مختلفة فى مصر أن أعلى شدة إصابة لمرض التبقع البنى (الشيكولاتى) فى الفول البلدى فى محافظة البحيرة يليها محافظة الغربية . أما بالنسبة لأعفان جذور الفول البلدى فقد سجلت أعلى نسبة إصابة بالمرض فى محافظة كفر الشيخ والبحيرة بينما أقل نسبة إصابة بالمرض كانت فى محافظة الغربية والشرقية .

٢- أوضحت نتائج العزل من أوراق الفول البلدى المصابة من المحافظات المختلفة أن أكثر الفطريات المعزولة تكراراً هو العفن B.fabae بنسبة ٣٧,٩٣ يليها الفطر Alternaria بنسبة ٢٩,٤٣ يليها الفطر B. Stemphylium sp. Epicocum , cinerea بنسبة ١١,٧٠% ، ١١,٤٤% ، ٩,٥٠% على التوالى. أما بالنسبة للعزل من جذور نباتات الفول البلدى المصابة فقد وجد أن الفطر Rhizoctonia أكثر الفطريات المعزولة تكراراً بنسبة ٣٨,٢٣% يليه الفطر Fusarium solani , Fusarium oxysporum pythium spp .

٣- عند إجراء اختبار القدرة المرضية لعزلات الفطر B. fabae والفطر B.cinerea وجد أن جميع العزلات المختبرة لها القدرة على إصابة نباتات الفول البلدى بدرجات مختلفة وكانت عزلات الفطر B.fabae أكثر فى القدرة المرضيةمن عزلات الفطر B.cinerea كما وجد أن عزلات الفطر B.fabae المعزولة من محافظة البحيرة كانت أقوى العزلات من حيث القدرة المرضية يليها عزلة محافظة المنوفية على التوالى فى حين كانت عزلة محافظة الغربية أقل العزلات من حيث القدرة المرضية أما بالنسبة لعزلات الفطر B.cinerea فقد وجد أن عزلة محافظة البحيرة كانت أقوى العزلات من حيث القدرة

المرضية فى حين أن عزلات محافظة المنوفية والغربية أقل العزلات من حيث القدرة المرضية . فى حين أن عند إجراء القدرة المرضية لعزلات الفطر R.solami وجد أن عزلة كفر الشيخ من أقوى العزلات من حيث القدرة المرضية يليها عزلة محافظة الدقهلية . فى حين كانت عزلة محافظة الشرقية أقل العزلات من حيث القدرة المرضية لحدوث موت البادرات .

٤- اختلفت أصناف الفول البلدى المختبرة من حيث حساسيتها للإصابة بمرض التبقع الشيكولاتى تحت ظروف الحقل حيث وجد أن الصنف جيزة ٤٦١ ونوبارية من أكثر الأصناف مقاومة للإصابة بتبقع الأوراق الشيكولاتى . فى حين أن الأصناف جيزة – ٤٠ ومصر ١ وجيزة – ٢ من أكثر الأصناف حساسية للإصابة أما باقى الأصناف المختبرة كانت متوسطة المقاومة أو متوسطة الحساسية للإصابة ، كما اختلفت أصناف الفول البلدى المختبرة من حيث حساسيتها للإصابة بمرض موت البادرات تحت ظروف الحقل ، وجد أن الصنف نوبارية – ١ وجيزة – ٧١٧ وجيزة ٤٦١ أكثر الأصناف مقاومة فى حين أن الأصناف جيزة – ٨٤٣ ، جيزة – ٢ من أكثر الأصناف حساسية للإصابة أما باقى الأصناف كانت متوسطة الحساسية للإصابة .

٥- أظهر الفحص باستخدام تكتيك الإكثار العشوائى للحامض النووى متعدد الأشكال (RADP) وتفاعل عديد البلمرة (PCR) باستخدام نوعين من البادى P1 , P2 مع العزلات المختلفة من الفطر B.fabae أن هناك درجة من التماثل بين العزلات المختلفة أن كلا من البادئان المستخدمان P1 , P2 وضع العزلات رقم ١ ، ٢ المعزولة من محافظة البحيرة (ذات القدرة المرضية العالية) تحت مستوى واحد درجة التماثل فيه تتراوح ما بين ٨٨ ، ٩٨ – ٩٧,٥٣% على التوالى حسب البادىء المستخدم P1 , P2 أما العزلة رقم (٤) المعزولة من محافظة الغربية وضعت تحت مستوى واحد درجة التماثل فيه تتراوح ما بين ٦٥,٩١% إلى ٩٢,٥٠% على التوالى حسب البادىء المستخدم P1 , P2 . جميع العزلات الأخرى رقم ٣ ، ٥ ، ٦ ، ٧ ، ٨ ، المعزولة من محافظات كفر الشيخ والدقهلية والمنوفية ، الشرقية ودمياط ، تم وضعها تحت مستوى واحد من التماثل فيه تتراوح ما بين ٩٤,٢٣% إلى ٩٦% على التوالى حسب البادىء المستخدم P1 , P2 أوضحت النتائج المتحصل عليها باستخدام الفصل الكهربائى للبروتينات هناك درجة من التماثل فى البروتينات الخاصة بالصنف المقاوم (جيزة – ٤٦١) والصنف القابل للإصابة (جيزة – ٣) حيث وصلت درجة التماثل بينهم إلى ٩٦,١% كما أوضحت الدراسة أن هناك (٤) بروتينات ذات الوزن الجزئى ٦٩ ، ٣٠ ، ٢٨ ، ٢١ ، موجودة فقط فى الصنف المقاوم

– أما البروتينات ذات الوزن الجزئى ٣١ ، ٢٩ ، ٢٢ ، موجـودة فقـط فـى الصنف القابل للإصابة .

٦- أوضحت الدراسة أيضاً أن هناك درجة من التماثل بين بروتينات العزلة القوية للفطر B.fabae وأصناف الفول البلدى المقاومة ، والقابلـة للإصـابة حيـث وصلت درجة التماثل بينهم حوالى ٤٣,٧٩% .

٧- عند استخدام المستحثات الحيوية تحت ظروف الصوبة فى صورة رش علـى المجموع الخضرى أو معاملة بذرة أدى ذلك إلى انخفاض شدة الإصابة بالفطر B.fabae مقارنة بالكنترول الغير معامـل وكانـت البكتريـا Ps.fluorsens بتركيز (2.8×10^2 cfu) رش على المجمـوع الخـضرى مـن أفـضل المستحثات الحيوية المستخدمة يليها الفطر B.cinerea بتركيـز (2.5×10^5) فى حين كانت البكتريا Ps.aeruginosa أقل المستحثات الحيوية فـى التـأثير على شدة الإصابة . كما وجد أيضاً أن الفطر B.cinerea بتركيـز (2.5×10^5 جرثومة / سم) من أفضل المستحثات الحيوية المستخدمة كمعاملة بـذرة يليها البكتريا Ps.aeruginosa بتركيز (2.3×10^2 cfu) . عمومـاً فـإن استخدام المستحثات الحيوية رشاً على المجموع الخضرى كانت أكثر فعالية فى تقليل شدة الإصابة بالمرض مقارنة باستخدام المستحثات الحيوية فـى صـورة معاملة بذرة .

٨- عند استخدام المستحثات الغير حيوية تحت ظروف الصوبة سواء رشـاً علـى المجموع الخضرى أو معاملة للبذرة أدى ذلك إلى انخفاض ملحوظ فـى شـدة الإصابة بالفطر B.fabae مقارنة بالكنترول الغير معامل وقد وجد أن حامض سالسيلك عند تركيز (٥ ملى مول) سواء رشاً على المجموع الخـضرى أو معاملة البذرة من أفضل المستحثات المستخدمة حيث قللـت نـسبة الإصـابة بالمرض بدرجة ملحوظة يلى ذلك استخدام الاثيفون فى صورة رش للمجمـوع الخضرى (بتركيز ٨٠٠ جزء فى المليون) أو فى صورة معاملة بذرة بتركيز (١٠٠٠ جزء فى المليون) .

٩- وجد أن معاملة بذور الفول البلدى بالمستحثات الحيوية قبل الزراعـة (تحـت ظروف الصوبة) قد أدى إلى انخفاض نسبة غياب البـادرات المتـسبب عـن الفطر R.solani مقارنة بالبذور الغير معاملة وكانت البكتريا Ps.fluorscens بتركيز (2.8×10^2 cfu) أفضل المستحثات الحيوية المستخدمة يليها البكتريا Ps.aeruginosa بتركيز (2.8×10^2 cfu) ثم مبيد البنليت بمعدل ٣ جـم / كجم بذرة فى حين أن الفطر B.cinerea كان أقل المستحثات الحيويـة فـى

الكفاءة . وجد أن معاملة بذور الفول البلدى بالمستحثات الغير حيوية قبل الزراعة (تحت ظروف الصوبة) أدى إلى انخفاض نسبة غياب البادرات المتسبب عن الفطر R.soloni مقارنة بالبذور الغير معاملة وكان أكفأ المستحثات الغير حيوية المستخدمة حمض السالسيلك بتركيز (٧ ملى مول) يليه الاثيفون بتركيز (٨٠٠ جزء فى المليون) ثم الكوبالت بتركيز (١ جزء فى المليون) ومبيد البنليت بتركيز ٣ جم / كجم بذرة .

١٠- باستخدام الفصل الكهربى للبروتين وجد أن رش نبات الفول البلدى بالمستحثات الحيوية والغير حيوية أدى إلى تكوين بروتينات جديدة فى النباتات المعاملة وهذه البروتينات المتكونة غير موجودة فى النباتات السليمة أو النباتات المعاملة بالفطر فقط . وكان أعلى عدد من البروتينات الجديدة موجودة فى النباتات التى سبق رشها بالكوبالت وبكتريا Ps.fluorsens يليها النباتات المعاملة بحامض الساليسليك . فوسفات البوتاسيوم الاثيفون والسابرنين . فى حين أن أقل عدد من البروتينات الجديدة وجد فى النباتات التى سبق رشها بالفطر B.cinerea والبكتريا Ps.aeruginosa . كما لوحظ وجود بروتين جديد وزنه الجزئى ٤٤ كيلو دالتون موجود فقط فى جميع النباتات التى سبق رشها بالمستحثات الحيوية وغير الحيوية .

١١- تم دراسة تأثير المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية على النشاط الإنزيمى لنباتات الفول البلدى خلال فترات مختلفة وقد أوضحت النتائج ما يلى:

١١- أ- إنزيم البيروكسيديز :

- أدت المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية إلى زيادة ملحوظة فى نشاط إنزيم البيروكسيديز خلال فترات الاختبار مقارنة بالكنترول .

- ففى حالة الصنف القابل للإصابة (جيزة – ٣) وجد أن أعلى نشاط إنزيمى كان خلال ٢٤ ساعة كما وجد أن استخدام البكتريا Ps.fluorscens , Ps.aeruginosa يليها السابونين رشا على المجموع الخضرى حقق أعلى معدل لنشاط إنزيم البيروكسيديز . فى حين أن معاملة البذور بحامض السالسيلك يليها السابونين ثم البكتريا Ps.aeruginosa سجلت أعلى معدل للنشاط الانزيمى .

- أما فى حالة الصنف المقاوم (جيزة ٤٦١) وجد أن أقصى نشاط لإنزيم البيروكسيديز كان خلال من ٢٤ – ٤٨ ساعة . وقد وجد أن المعاملة بالبكتريا Ps. Fluorscens يليها الفطر B.cinerea المعامل حراريا رشا

على المجموع الخضرى حقق أعلى معدل للنشاط الإنزيم أما فى حالة معاملة البذور وجد أن استخدام حامض السالسيلك يليـه البكتريـا Ps.aeruginosa أعطى أعلى معدل لنشاط إنزيم البيروكسيديز .

١١- ب – إنزيم البولى فينول اوكسيديز :

- أكدت النتائج أن جميع المستحثات الحيوية والغير حيويـة أدت إلـى زيـادة ملحوظة فى نشاط إنزيم البولى فينول اوكـسيديز خـلال فتـرات الاختبـار المستخدمة مقارنة بالكنترول ، وكان أقصى معدل لنشاط هذا الإنزيم خـلال ١٢ – ٢٤ ساعة فى الصنف المقابل للإصابة (جيـزة ٣) كمـا وجـد أن استخدام البكتريا Ps.fluorsens يليها والسابونين ثم الكوبالت فى صورة رش للمجموع الخضرى أدى إلى أعلى زيادة لنشاط إنزيم البولى فينول اوكسيديز. أما معاملة البذور بحامض السالسيليك والفطر B.cinerea يليهـا الـسابونين سجلت أقصى نشاط إنزيم .

- أما فى حالة الصنف المقاوم (جيزة ٤٦١) وجد أن أقصى نـشاط لإنـزيم البولى فينول اوكسيديز تم تسجيله خلال ٢٤ – ٤٨ ساعة . كمـا وجـد أن استخدام الكوبالت والبكتريا Ps. Aeruginosa يليهـا حـامض السالـسيلك سجلت أقصى نشاط انزيمى عند استخدامها رشا على المجموع الخضرى فى حين أن استخدام البكتريا Ps.aeruginosa يليها Ps.fluorscens ثم حامض السالسيلك سجلت أقصى نشاط إنزيمى عند استخدامها فى صـورة معاملـة البذور .

١١- ج – إنزيم البيتا ١ – ٣٢ جلوكاتيز :

- أكدت النتائج أن جميع المستحثات الحيوية والغير حيوية لها القدرة على زيادة نشاط – إنزيم البيتا ١ – ٣ جلوكاتيز مقارنة بالكنترول الغير معامل خـلال فترات الاختبار المختلفة .

- ففى حالة الصنف المقابل للإصابة (جيزة – ٣) وجـد أن أقـصى معـدل للنشاط الانزيمى خلال ٤٨ ساعة . كما وجد أن استخدام حامض السالـسيلك يليها البكتريا Ps.fluorsens ثم البكتريا Ps.aeruginosa فى صورة معاملة بذرة أو فى معاملة رش على المجموع الخضرى أدى إلـى زيـادة الإنـزيم بدرجة كبيرة مقارنة بالمعاملات الأخرى .

- أما فى حالة الصنف المقاوم (جيزة ٤٦١) وجد أن أقصى نشاط لهذا الإنزيم خلال الفترة من ٤٨ – ١٢٠ ساعة . كما أدت المعاملة بحامض السالـسيلك

يليها الكوبالت ثم البكتريا Ps.fluorscens إلى أقصى نشاط للإنـزيم عنـد استخدامه رشاً على المجموع الخضرى . فى حين أن معاملة البذرة بالكوبالت يليها المعاملة الاثيفون ثم البكتريا Ps.fluorscens حققت أقصى معدل نشاط الانزيمى .

١١- د - إنزيم الكيتنيز :

- أدت المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية إلى زيادة ملحوظـة لنـشاط إنزيم الكتينيز (خلال فترات الاختبار المختلفة) مقارنة بـالكنترول الغيـر معامل . وقد سجل أقصى نشاط لإنزيم الكيتينيز خلال ٤٨ - ١٢٠ ساعة .
- فى حالة الصنف المقابل للإصابة (جيـزة - ٣) وجـد أن رش المجمـوع الخضرى بالكوبالت يليه البكتريا Ps.fluorscens حقق أقصى زيـادة فـى نشاط هذا الإنزيم . فى حين أن معاملة البذرة بحامض السالسيلك يليه البكتريا Ps.fluorscens ثم K_2HPO_4 سجلت أقصى زيادة لنشاط الإنزيم .
- وفى حالة الصنف المقاوم (جيزة ٤٦١) وجد أن استخدام حامض السالسيلك يليه K2HPO4 ثم البكتريا Ps.aeruginosa رشا على المجموع الخضرى حقق أعلى زيادة لنشاط هذا الإنزيم . وعند معاملة البذرة بالمستحثات التاليـة للكوبالت ثم حامض السالسيلك ثم البكتريا Ps.fluorscens سـجلت أقـصى نشاط لهذا الإنزيم .
- وجد أن هناك علاقة بين الزيادة فى النـشاط للإنزيمـات (البيروكـسيدز - البولى فينول أوكسيديز - الجلوكانيز - الكيتينيز) فى تقليل شدة الإصابة .

١٢- أكدت نتائج التجارب الحقلية أن جميع المستحثات الحيويـة والغيـر حيويـة المستخدمة قللت بدرجة ملحوظة من شدة الإصابة بمرض التبقـع الـشيكولاتى للفول البلدى مقارنة بالنباتات الغير معاملة . وجد أن حامض السالسيلك بتركيز (٥ ملى مول) والبكتيرى Ps.fluorscens بتركيـز (2.8×10^2) يليهـا الكوبالت بتركيز (١ جزء فى المليون) الاثيفون بتركيز (٨٠٠ جـزء فـى المليون) من أفضل المستحثات المستخدمة حيث قللـت مـن شـدة الإصـابة بالمرض بدرجة كبيرة عند استخدامها رشاً على المجموع الخضرى ، كمـا أن

معاملة بذور الفول البلدى قبل الزراعة بالمستحثات التالية حامض السالسيلك بتركيز (٥ ملى مول) يليها الاثيفون بتركيز (٨٠٠ جزء فى المليون) والبكتريا Ps.fluorscens كانت أفضل المستحثات التى خفضت من شدة الإصابة بالمرض .

١٣- وجد أيضاً أن معاملة بذور الفول البلدى بالمستحثات الحيوية والغير حيوية قبل الزراعة خفض من شدة الإصابة بمرض أعفان الجذور تحت ظروف الحقل وذلك مقارنة بالكنترول الغير معامل . ففى محافظة المنوفية والبحيرة وجد أن الاثيفون بتركيز (١٠٠٠ جزء فى المليون) وحامض السالسيلك بتركيز (٧ ملى مول) والبكتريا Ps.fluorscens بتركيز (2.8×10^2) من أفضل المستحثات المستخدمة حيث قللت من نسبة غياب البادرات بدرجة كبيرة .

١٤- أكدت نتائج التجارب الحقلية أن استخدام المستحثات الحيوية فى (صورة معاملة بذرة أو رش المجموع الخضرى أدى إلى زيادة ملحوظة فى القياسات المحصولية لنباتات الفول المعاملة مقارنة بالكنترول الغير معامل وقد وجد أن معاملة النبات بهذه المستحثات مرتين أعطى أفضل النتائج مقارنة بالمعاملة مرة واحدة) .

١٥- أكدت نتائج معاملة البذرة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية أن المعاملة بالبكتريا Ps.fluorscens يليها حامض السالسيلك أدت إلى زيادة ملحوظة بالنسبة لطول الساق . فى حين أن البكتريا Ps.fluorscens Co^{++} حققت أعلى معدل للوزن الرطب والجاف فى الساق ، أما البكتريا Ps.fluorscens ثم الكوبالت حققت أعلى معدل لوزن الـ ١٠٠ بذرة . أما أعلى معدل للمحصول تم تسجيله عند معاملة البذرة بالبكتريا Ps.fluorscens والسالسليك أسد . كما أكدت النتائج أن رش المجموع الخضرى بالمستحثات الكوبالت يليه البكتريا Ps.fluorscens أو السالسيلك أسيد سجلا أعلى معدل لطول الساق ، أما أعلى وزن رطب وجاف للساق وجد عند المعاملة بالـ الكوبالت والسالسيلك آسد يليهم Ps.fluorsens بينما السالسيلك أسيد Ps. Fluorscens والكوبالت سجلوا أعلى معدل لوزن الـ ١٠٠ بذرة والمحصول .

ثانى عشر : " دراسات على المقاومة المستحثة للبياض الدقيقى فى الخيار تحت ظروف الصوبة والزراعات المحمية :

للباحثة / إيمان محمود حسين عبد الكريم للحصول على درجة الدكتوراه فى العلوم (نبات زراعى) عام ٢٠٠٨ – تحت إشراف أ٠د٠ محمود عبد المحسن سويلم ، أ٠د٠ محمد صلاح الدين فليفل .

محصول الخيار واحد من أهم محاصيل الخضروات ليس فى مصر وحدها بل فى كل دول العالم تقريباً . الخيار يعتبر بيئة ومهد مناسب للعديد من الأمراض النباتية والتى تسبب الكثير من الخسائر . البياض الدقيقى أحد هذه الأمراض التى تهاجم محصول الخيار مسببة نقص فى المحصول يمكن تلخيص أهم نتائج البحث فيما يلى :

١- أظهرت العينات المختلفة من أوراق الخيار المصابة والتى تم تجميعها من أماكن مختلفة من الجمهورية أعراض البياض الدقيقى .

٢- أوضحت نتائج الفحص الميكروسكوبى لعزلات مختلفة من البياض الدقيقى والتى تم تجميعها من ٦ محافظات مختلفة من الجمهورية أن المسبب المرضى للبياض الدقيقى هو Sphaerotheca fuliginea وليس Erysiphe cichoraceaum.

٣- أوضحت نتائج القدرة المرضية تحت ظروف الصوبة لـ ٦ عزلات مختلفة من البياض الدقيقى معزولة من ٦ محافظات مختلفة من الجمهورية وهى الجيزة ، القليوبية ، الشرقية ، المنوفية ، البحيرة وكفر الشيخ أن جميع العزلات كانت لها القدرة على إحداث الإصابة وقد سجلت عزلة القليوبية أقوى العزلات من حيث القدرة المرضية يليها عزلة المنوفية بينما سجلت باقى العزلات أقل قدره مرضية.

٤- اختلفت أصناف الخيار المختلفة من حيث حساسيتها للإصابة بالبياض الدقيقى تحت ظروف الصوبة وقد سجلت الأصناف بيتا ألفا و روا كأكثر الأصناف حساسية للبياض الدقيقى كما كان باسندرا وزينا هجين أقل للإصابة بينما كان سليبريتى مقاوم للإصابة . وقد تراوحت باقى الأصناف المختبرة بين متوسطة الحساسية ومتوسطة المقاومة .

٥- تم اختبار تأثير ٣ تركيزات مختلفة من المستحثات الحيوية والغير حيوية كمعاملة بذرة أو رش على المجموع الخضرى تحت ظروف الصوبة وقد سجلت جميع المستحثات المختبرة انخفاض ملحوظ فى شدة الإصابة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وقد سجلت التركيزات الآتية أفضل النتائج وهى $١٠^{٨}$ وذلك مع استخدام الباسلس ستلس و $١٠^{٦}$ مع استخدام الترايكودرما

هاريزيانم و ٠,٠٣ جرام / لتر فى حالة استخدام الاكوا – ١٠ . ومن الناحية الأخرى سجلت التركيزات الآتية أفضل التركيزات المستخدمة مع المستحثات الكيماوية وهى ١٠ ، ٢٠ ، ١٠ ، ٥ ، ٢٠ ملى مول وذلك مع استخدام حامض الاوكسليك ، السالسيلك ، البوتاسيوم اوكسالات ، البوتاسيوم فوسفات و الفونوفور كما سجل حامض السيترك والبوتاسيوم كلورايد أفضل النتائج مع التركيزات الآتية ٠,٠٤% ، ٠,٠٥% بينما سجل البيون أفضل النتائج باستخدام تركيز ٠,١٨ جرام / لتر .

٦- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن الاكوا ١٠ سجل أفضل المستحثات الحيوية فى تقليل شدة الإصابة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وذلك كمعاملة بذرة بينما سجل البيون أفضل المستحثات الغير حيوية .

٧- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن الترايكوديرما هاريزيانم يليه الاكوا ١٠ كانت أفضل المستحثات الحيوية المستخدمة فى تقليل شدة الإصابة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) عند استخدامها رشاً على المجموع الخضرى مرة واحدة أو مرتين بينما سجل البيون والفوتوفور أفضل المستحثات الكيماوية المستخدمة وذلك عند استخدامها رشاً على المجموع الخضرى مرتين.

٨- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن رش المجموع الخضرى بالمعاملات الحيوية والغير حيوية سجل أفضل النتائج فى تقليل شدة الإصابة بالمقارنة بمعاملة البذرة كما سجل الرش مرتين على المجموع الخضرى أفضل النتائج بالمقارنة بالرش مرة واحدة .

٩- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن معاملة المجموع الخضرى بالمستحثات الحيوية والغير حيوية أدى إلى زيادة ملحوظة فى القياسات المحصولية لنباتات الخيار (طول المجموع الخضرى والمجموع الجذرى ، الوزن الرطب والوزن الجاف للمجموع الخضرى والجذرى) بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) كما أوضحت النتائج أن رش المجموع الخضرى بالمستحثات الحيوية والغير حيوية مرتين أعطى أفضل النتائج فى تقليل شدة الإصابة بالمقارنة بالرش مرة واحدة .

٩-١- سجل حامض الساليسالك يليه البوتاسيوم فوسفات ، الفانجاستوب وحامض السيترك أعلى زيادة فى طول المجموع الخضرى بالمقارنة بالمعاملات الأخرى عند رشها مرة واحدة بينما سجل حامض الساليسالك والبوتاسيوم فوسفات أعلى زيادة فى طول المجموع الخضرى عند استخدامها بالرش

مرتين على المجموع الخضرى . بالإضافة إلى ذلك سجل حامض الساليسالك ، الفانجاستوب وحامض السيترك أعلى زيادة فى طول المجموع الجذرى باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية .

٩-٢- سجل الفوتوفور يليه كل من الترايكودرما هاريزيانم ، البيون والفنجاستوب أعلى زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الخضرى باستخدام الرشة الأولى بينما سجل الفوتوفور يليه البوتاسيوم كلورايد ، حامض الاوكسالك وحامض السيترك أعلى زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الخضرى مع استخدامها بالرش مرتين على النباتات .

٩-٣- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الجذرى نتيجة المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية . وقد سجل الفوتوفور يليه الفانجاستوب أعلى زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الجذرى باستخدام الرشة الأولى بينما سجل الفوتوفور يليه الفانجاستوب والباسيلس ستلس أعلى زيادة فى الوزن الرطب للمجموع الجذرى باستخدام الرشة الثانية .

٩-٤- أدت المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية إلى زيادة ملحوظة فى الوزن الجاف للمجموع الخضرى والمجموع الجذرى بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وقد سجل البوتاسيوم فوسفات والبوتاسيوم كلورايد أعلى زيادة فى الوزن الجاف للمجموع الخضرى باستخدام الرشة الأولى والثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى ، بينما سجل البوتاسيوم كلوريد أعلى زيادة فى الوزن الجاف للمجموع الجذرى باستخدام الرشة الأولى . كما سجل الباسيلس ستلس يليه حامض السيترك والبوتاسيوم اوكسالات أعلى زيادة فى الوزن الجاف المجموع الجذرى باستخدام الرشة الثانية .

١٠- تم دراسة التغيرات البيوكيميائية فى نباتات الخيار نتيجة المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية وذلك قبل العدوى وبعد ١ ، ٢ ، ٤ ، ٦ أيام من العدوى وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) .

١٠-١- أدت جميع المستحثات الحيوية والغير حيوية إلى زيادة ملحوظة فى محتوى النباتات من الفينولات الحرة بالمقارنة بالنباتات الغير معاملة (الكنترول) . وقد سجل البيسيدمونس فلوريسنس يليه البيون أعلى زيادة فى محتوى النباتات من الفينولات الحرة بالمقارنة بالمعاملات الأخرى وذلك باستخدام الرشة الأولى كما سجل البيون والبيسيدومونس فلوريسنس وحامض الساليسالك أعلى زيادة من خلال الرشة الثانية . كما أدت المعاملة

بالمستحثات المختلفة إلى زيادة فى محتوى النباتات من الفينولات الكلية وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وقد سجل البيون البيسيدومونس فلوريسنس أعلى زيادة فى محتوى النباتات من الفينولات الكلية باستخدام الرشة الأولى بينما سجل الفوتوفور ، السيسدومونس فلوريسنس وحامض الاوكسالك أعلى زيادة من خلال الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١٠-٢- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة في محتوى النباتات من السكريات المختزلة والكلية نتيجة المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة خلال الفترات الزمنية والمختبرة وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) ، وقد سجل حامض الساليسالك ، البيون والبوتاسيوم كلورايد أعلى زيادة في محتوى النباتات من السكريات المختزلة من خلال الرشة الأولى بالمقارنة بالمعاملات الأخرى . وقد سجل السيسدومونس فلوريسنس ، حامض السيترك والبيون أعلى زيادة في محتوى النباتات من السكريات المختزلة من خلال الرشة الثانية . كما أوضحت النتائج المتحصل عليها أيضاً زيادة في محتوى النباتات من السكريات الكلية بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) وقد سجل البوتاسيوم كلورايد وحامض الاوكسالك أعلى زيادة في محتوى النباتات من السكريات الكلية باستخدام الرشة الأولى بالمقارنة بالمعاملات الأخرى ، بينما سجل السيسدومونس فلوريسنس والترايكودرما هاريزيانم أعلى زيادة في محتوى النباتات من السكريات الكلية من خلال الرشة الثانية .

١٠-٣- أدت المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة إلى زيادة ملحوظة في نشاط إنزيم البيروكسيديز وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) من خلال الفترات الزمنية المختبرة . وقد سجلت النتائج المتحصل عليها أعلى زيادة في نشاط البيروكسيديز نتيجة المعاملة بالترايكودرما هاريزيانم ، الفانجاستوب ، الباسيلس ستلس والبيون بالمقارنة بالمعاملات الأخرى وذلك من خلال الرشة الأولى ، بينما سجل الفانجاستوب يليه البوتاسيوم أوكسالات وحامض الساليسالك أعلى زيادة في نشاط البيروكسيديز من خلال الرشة الثانية .

١٠-٤- أوضحت النتائج المتحصل عليها أن جميع المستحثات الحيوية والغير حيوية أدت إلى زيادة ملحوظة في نشاط إنزيم البولي فينول أوكسيديز من خلال الفترات الزمنية المختبرة وذلك بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . وقد سجل حامض الاوكسالك يليه الفانجاستوب أعلى زيادة

في النشاط الإنزيمي من خلال الرشة الأولى بالمقارنة بالمعاملات الأخرى بينما سجل حامض الاوكسالك ، والساليسالك والبوتاسيوم كلورايد أعلى زيادة في نشاط إنزيم البولي فينول أوكسيديز من خلال الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١٠-٥- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة في نشاط إنزيم الشيتينيز نتيجة معاملة النباتات بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة خلال الفترات الزمنية المختبرة بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . سجل الترايكودرما هاريزيانم يليه الباسيلس ستلس والفوتوفور أعلى زيادة في نشاط الشيتينيز وذلك باستخدام الرشة الأولى بينما سجل الترايكودرما هاريزيانم ، الباسيلس ستلس والبيسيدومونس فلوريسينس أعلى زيادة في النشاط الإنزيمي باستخدام الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١٠-٦- أدت معاملة نباتات الخيار بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة إلى زيادة في نشاط إنزيم البيتاجلوكانيز في النباتات المعاملة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . وقد سجل الباسيلس ستلس ، التوباس ١٠٠ والبوتاسيوم اوكسالات أعلى زيادة في النشاط الإنزيمي باستخدام الرشة الأولى بينما سجل البيسيدومونس فلوريسنس ، البيون والتوباس ١٠٠ أعلى زيادة في نشاط الجلوكانيز من خلال الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١٠-٧- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة محتوى النباتات من البروتينات الكلية نتيجة المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلف بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . سجل الترايكودرما هاريزيانم والباسيلس ستلس أعلى زيادة في محتوى النباتات من البروتينات الكلية باستخدام الرشة الأولى . بينما سجل البيون والفانجاستوب أعلى زيادة في المحتوى الكلي للبروتينات باستخدام الرشة الثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى .

١٠-٨- أدت معاملة النباتات بالمستحثات المختلفة إلى زيادة محتوى النباتات من الكلوروفيل والكاروتين بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . وقد سجل الفانجاستوب ، البوتاسيوم كلورايد وحامض السيترك أعلى زيادة في محتوى النبات من الكلوروفيل باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية بالمقارنة بالمعاملات الأخرى . كما سجل حامض السيترك ، السالساليك ، الاوكساليك ، البوتاسيوم فوسفات والبوتاسيوم اوكسالات أعلى زيادة في محتوى النبات من الكاروتين باستخدام الرشة

الأولى . وقد سجل البوتاسيوم اوكسالات ، حامض الستريك والاوكساليك ، البيون والترايكودرما هاريزيانم أعلى زيادة في محتوى النباتات من الكاروتين باستخدام الرشة الثانية .

١٠-٩- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة محتوى النباتات من حامض السالساليك نتيجة المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة خلال الفترات الزمنية المختلفة مقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . وقد تم اختبار نوعين من المستحثات الحيوية (الترايكوديرما هاريزيانم والبيسيدومونس فلوريسينس) ونوعين من المستحثات الغير حيوية (حامض الاوكساليك والبيون) . وقد سجل الترايكودرما هاريزيانم أعلى زيادة في محتوى النباتات من حامض السالساليك بعد ٤ أيام من العدوى وذلك باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية . كما سجل البيسيدومونس فلوريسنس أعلى زيادة في محتوى النباتات من حامض السالساليك بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يومين من العدوى باستخدام الرشة الثانية . وقد سجلت المعاملة باستخدام حامض الاوكساليك أعلى زيادة في محتوى النباتات من حامض السالساليك بعد يوم العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يومين باستخدام الرشة الثانية . كما سجل البيون أعلى زيادة في محتوى النبات من حامض السالساليك بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يومين من العدوى باستخدام الرشة الثانية .

١٠-١٠- أوضحت النتائج المتحصل عليها زيادة في محتوى النباتات من الفيتواليكسينات نتيجة المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة خلال الفترات الزمنية المختلفة بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . وقد تم استخدام نوعين من المستحثات الحيوية (الترايكودرما هاريزيانم والبيسيدومونس فلوريسنس) والغير حيوية المختلفة (حامض الاوكساليك والبيون) . سجلت المستحثات الحيوية (الترايكوديرما هاريزيانم والبيسيدومونس فلوريسنس) زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . وقد سجل الترايكوديرما هاريزيانم زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات بعد يومين من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يوم من العدوى فقط باستخدام الرشة الثانية بينما سجل البيسيدومونس فلوريسنس زيادة في محتوى النباتات من الفيتواليكسينات خلال الفترات الزمنية المختبرة من خلال الرشة الأولى

والثانية بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) وسجلت أعلى زيادة بعد ٤ أيام باستخدام الرشة الأولى وبعد يومين باستخدام الرشة الثانية . وقد سجل حامض الاوكساليك زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات خاصة بعد ١ ، ٢ ، ٤ يوم من العدوى بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) وقد سجلت أعلى زيادة بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الثانية كما سجل حامض الاوكساليك أعلى زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات أعلى زيادة بعد يومين من العدوى بالمقارنة بالفترات الزمنية الأخرى باستخدام الرشة الثانية . ومن الناحية الأخرى سجل البيون زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات خاصة بعد ١ ، ٤ ، ٦ أيام من العدوى بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) وكانت أعلى زيادة بعد يوم من العدوى باستخدام الرشة الأولى بينما زاد محتوى النباتات من الفيتواليكسينات خاصة بعد ١ و ٤ يوم من العدوى باستخدام الرشة الثانية بالمقارنة بالكنترول وقد سجل البيون أعلى زيادة في محتوى النبات من الفيتواليكسينات بعد ٤ أيام من العدوى بالمقارنة بالفترات الزمنية الأخرى .

١٠-١١- أدت المعاملة بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة إلى نقص ملحوظ في محتوى النباتات من حامض الابسيسك باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية بالمقارنة بالنباتات المصابة (الكنترول) . وقد تم استخدام نوعين من المستحثات الحيوية (الترايكوديرما هاريزيانم والبيسيدومونس فلوريسنس) والغير حيوية المختلفة (حامض الاوكساليك والبيون) . وقد سجل حامض الاوكساليك أعلى نقص في محتوى النبات من حامض الابسيسك بعد ٦ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يوم من العدوى باستخدام الرشة الثانية . بينما سجل البيون أعلى نقص في محتوى النباتات من حامض الابسيسك بعد يوم من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد ٦ أيام من العدوى باستخدام الرشة الثانية . من الناحية الأخرى سجل الترايكودرما هاريزيانم أعل نقص في محتوى النباتات من حامض الابسيسك بعد يوم من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد ٦ أيام من العدوى باستخدام الرشة بينما سجل البيسيدومونس فلوريسنس أعلى نقص

في محتوى النباتات من حامض الابسيسك بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى وبعد يوم من العدوى باستخدام الرشة الثانية .

١٠-١٢- أدت معاملة النباتات بالمستحثات الحيوية والغير حيوية المختلفة إلى زيادة في محتوى النباتات من حامض الجبريلك خلال الفترات الزمنية المختلفة بالمقارنة بالنباتات المصابة والغير معاملة (الكنترول) . وقد تم اختبار نوعين من المستحثات الحيوية (الترايكوديرما هاريزيانم والبسيدومونس فلوريسنس) والغير حيوية المختلفة (حامض الاوكساليك والبيون) . وقد سجل الترايكوديرما هاريزيانم أعلى زيادة في محتوى النباتات من حامض الجبريلك بعد ٤ أيام من العدوى باستخدام الرشة الأولى والثانية . بينما لم يسجل البيسيدومونس فلوريسنس زيادة في محتوى النبات من حامض الجبريلك بالمقارنة بالكنترول وذلك باستخدام كل من الرشة الأولى والثانية. من الناحية الأخرى سجلت المعاملات الغير حيوية زيادة في محتوى النباتات من حامض الجبريلك بالمقارنة بالنباتات المصابة (بالكنترول) وقد سجل حامض الاوكساليك أعلى زيادة بعد ٢ يوم من العدوى بعد كل من الرشة الأولى والثانية ، بينما سجل البيون أعلى زيادة من حامض الجبريلك بعد يومين من العدوى بعد الرشة الأولى وبعد يوم من العدوى باستخدام الرشة الثانية . كما أوضحت النتائج عدم وجود حامض جبريلك في النباتات المصابة بالمقارنة بالنباتات السليمة باستخدام الرشة الأولى والثانية .

ثالث عشر : المقاومة المستحثة لمقاومة مرض عفن جذور الفراولة وتأثيراتها الجانبية على الأنشطة الحيوية في التربة .

رسالة مقدمة من السيد / راضي السيد عبد الفتاح للحصول على درجة فلسفة الدكتوراه في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من كلية الزراعة بمشتهر جامعة بنها عام (٢٠٠٨) تحت إشراف : أ.د. عبد المنعم إبراهيم الفقي ، أ.د. جهاد محمد دسوقي الهباد ، أ.د. محمد السيد حافظ ، أ.د. محمد صلاح الدين فليفل .

استهدفت تلك الدراسة عزل وتعريف الفطريات المسببة لتعفن جذور الفراولة في أربع محافظات مصرية ، اختبار القدرة المرضية للفطريات المعزولة عند مستويات مختلفة من اللقاح ، دراسة ردود فعل بعض أصناف الفراولة ضد الإصابة بتلك الفطريات، دراسة تأثير بعض المستحثات الكيماوية (حمض السلسيليك ، حمض الأسكوربيك ، حمض البوريك ، كبريتات النحاس ، كبريتات الماغنسيوم ، فوسفات البوتاسيوم الحامضية ، البويون ، الإيثيفون والمبيد ريزولكس-ت) والحيوية (فطر ترايكودرما هاريزيانم ، بكتريا باسيللس ستلس ، بسيدوموناس فلوريسنس ، ستربتومايسيس اوروفاشينس ومستحضر شاي الكومبوشا) على نمو وإنبات التراكيب التكاثرية للفطريات المعزولة (في المعمل) والقدرة المرضية لبعض الفطريات ونمو نباتات الفراولة (تحت ظروف الصوبة) وآليات الدفع المستحثة في تلك النباتات فضلاً عن دراسة تأثيرها على تعداد بعض الكائنات الحية والأنشطة الإنزيمية في التربة المنزرعة بالنباتات المعاملة وفيما يلي ملخصاً لأهم نتائج تلك الدراسة :

١. تم الحصول على عدد ٣١٠ عزلة فطرية تنتمي إلى تسعة أنواع فطرية (سكليروشيوم رولفزياي ، ريزوكتونيا سولاني ، ريزوكتونيا فراجاريا ، فيوزاريوم سولاني ، فيوزاريوم اوكسيسبوروم ، ماكروفومينا فاسيولينا ، بيثيوم التيموم ، ألترناريا ، تريكودرما هاريزيانم) وذلك من جذور صنفين من الفراولة تظهر عليها إصابة طبيعية بأعفان الجذر وتم جمعها من مواقع مختلفة تمثل أربع محافظات مصرية وقد تفاوتت تكرارات عزل تلك الفطريات بتفاوت في المحافظات المختلفة وصنف الفراولة المستخدم . تم أيضاً عزل الفطريات سكليرشيوم رولفزياي ، ريزوكتونيا سولاني ، ريزوكتونيا فراجاريا ، ماكروفومينا فاسيولينا ، بيثيوم التيموم ، فيوزاريوم سولاني ، فيوزاريوم

اوكسيسبوروم ، فيوزاريوم سيميتكتوم ، فيوزاريوم روزيوم ، ألترناريا ، كيرفيولاريا من جذور شتلات الفريجو صنف كاماروزا بعد ١٥ يوماً من زراعتها في منطقة القليوبية كما تم عزل نفس تلك الفطريات عدا الفطريات ، فيوزاريوم سيميتيكوم ، فيوزاريوم روزيوم ، ألترناريا ، كيرفيولاريا عند زراعة تلك الشتلات في منطقة الشرقية .

٢. سببت جميع الفطريات تحت الدراسة إصابة وموت نباتات الفراولة كما زادت نسبة موت النباتات بزيادة مستويات لقاح تلك الفطريات كما سبب الخليط من لقاح تلك الفطريات أعلى معدل موت للنباتات بعد ٢١ يوماً من الزراعة (٥٤,١%) يليه الفطريات سكليروشيوم رولفزياي ، ريزوكتونيا فراجاريا ، ريزوكتونيا سولاني (٤٧,٩%) ، ماكروفومينا فاسيولينا ، فيوزاريوم اوكسيسبوروم (٣٩,٦%) ، فيوزاريوم سولاني (٣١,٢%) ، بيثيوم التيموم (١٦,٦%) على التوالي بينما سبب الفطر سكليروشيوم رولفزياي أعلى معدل موت بعد ٤٥ يوماً من الزراعة (٦٨,٨%) يليه خليط اللقاح (٦٦,٧%) ، ريزوكتونيا فراجاريا (٦٢,٥%) ، ريزوكتونيا سولاني (٦٠,٤%) ، ماكروفومينا فاسيولينا (٥٦,٢%) فيوزاريوم اوكسيسبوروم (٥٠,٠%) ، فيوزاريوم سولاني (٤١,٧%) ثم بيثيوم التيموم (٣٧,٥%) على التوالي .

٣. أظهرت أصناف الفراولة المختبرة درجات متفاوتة من القابلية للإصابة بمسببات عفن الجذور تحت الاختبار وبشكل عام كان الصنف كي ١٤ الأقل قابلية للإصابة يليه الأصناف سويت شارل ، شاندلر ، جافوتا ، كاماروزا على الترتيب.

٤. أظهرت الدراسات المعملية أن جميع التركيزات المستعملة من كبريتات المغنسيوم لم يكن لها تأثير على نمو جميع الفطريات تحت الدراسة بينما أدى استعمال فوسفات البوتاسيوم الحامضية بتركيز ١٠ ، ١٥ ، ٢٠ ملليمول إلى تثبيط نمو الفطر فيوزاريوم سولاني فقط بمقدار ٢٩,٦ ، ٤٤,٤ ، ٥٩,٢% على التوالي . أيضاً لم يكن لبعض المحثات الكيماوية تأثيرات واضحة على نمو فطريات معينة مثل كبريتات النحاس المستعملة ضد الفطريات ماكروفومينا ، بيثيوم والبوبون المستعمل ضد الفطريات سكليروشيوم ، ماكروفومينا ، بيثيوم

وحمض البوريك المستعمل ضد الفطر ماكروفومينا . وفي المقابل سبب بعض المحثات تثبيطاً تاماً لنمو جميع الفطريات مثل المبيد ريزولكس-ت (بتركيز أعلى من ٢٠٠ جزء في المليون) وحمض الساليسليك (أعلى من ١٥ ملليمول) بينما سبب استعمال الإيثيفون بتركيز أعلي من ٢٠٠ جزء في المليون إلى تثبيط نمو الفطريات ماكروفومينا ، بيثيوم ، فيوزاريوم سولاني . وبينما لم يؤثر استعمال حمض الساليسيليك بتركيز ٤ ملليمول على نمو الفطر ماكروفومينا فإن نفس هذا التركيز أدى إلى تثبيط نمو الفطريات بيثيوم ، سكليروشيوم بمعدل ٤٣,٣ ، ٨٧,٠% على التوالي .

٥. كان لفطر التضاد تريكودرما هاريزيانم تأثيرات متفاوتة على نمو الفطريات الممرضة حيث كان الفطر فيوزاريوم سولاني الأكثر تأثراً يليه الفطريات ريزوكتونيا سولاني ، ريزوكتونيا فراجاريا ، ماكروفومينا ، سكليروشيوم ، بيثيوم على التوالي . أما بالنسبة لبكتريا التضاد باسيللس ستلس فقد كان تأثيرها أشد ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني ثم الفطريات سكليروشيوم ، ريزوكتونيا فراجاريا ، ماكروفومينا ، فيوزاريوم سولاني بينما لم يكن لها تأثير واضح على نمو الفطر بيثيوم . أما بكتريا التضاد بسيدوموناس فلوريسنس فقد ثبطت فقط من نمو الفطريات ريزوكتونيا سولاني (٣٣,٧%) ، سكليروشيوم (٣١,٠%) ، فيوزاريوم سولاني (١٧,٣%) وكذلك البكتريا ستربتومايسيس أوروفاشينس ثبطت فقط نمو الفطر فيوزاريوم سولاني (١٨,١%) ولم يكن لكليهما وكذلك مستحضر شاي الكومبوشا أية تأثير على نمو الفطريات الأخرى .

٦. لم يكن لكبريتات المغنيسيوم أية تأثيرات على إنبات التراكيب التكاثرية للفطريات فيوزاريوم سولاني (جراثيم) وسكليروشيوم رولفزياي (أجسام حجرية) . أيضاً لم تؤثر فوسفات البوتاسيوم الحامضية والبويون على إنبات الأجسام الحجرية فقط . ومن ناحية أخرى أدى استعمال المبيد ريزولكس-ت بتركيزات ٢٠٠ ، ٦٠٠ جزء في المليون إلى تثبيط كامل لإنبات الأجسام الحجرية والجراثيم على التوالي كما أدى استعمال حمض الساليسليك (٢٠ ملليمول) ، كبريتات النحاس (٢٠ ملليمول) والإيثيفون (٨٠٠ جزء في المليون) إلى تثبيط كامل لإنبات الأجسام الحجرية للفطر سكليروشيوم بينما قللت إنبات جراثيم الفطر فيوزاريوم بمعدلات ٤,٤ ، ٢٦,٩ ، ٩,٦% على الترتيب .

٧. كان فطر التضاد تريكودرما هاريزيانم وبكتريا التضاد بسيدوموناس فلوريسنس الأكثر فاعلية في تثبيط إنبات التراكيب التكاثرية (الأجسام الحجرية والجـراثيم٩ بنيما لم يكن لمستحضر شاي الكومبوشا أية تأثير في هذا الخصوص . أيضاً لم يكن للبكتريا ستربتومايسيس اوروفاشينس أية تأثير على إنبات الأجسام الحجرية بينما أثرت جزئياً على إنبات الجراثيم الكونيدية للفطر فيوزاريـوم سـولاني . وعموماً كان إنبات الأجسام الحجرية أكثر حساسية وتأثراً بالمحثـات الحيويـة المختبرة مقارنة بالجراثيم الكونيدية .

٨. كان نشاط الإنزيمات بيروكسيداز ، بوليفينول أوكسيداز ، كاتاليز ، شيتيناز أعلى في ميسيليومات جميع الفطريات الممرضة المختبرة عنه في رواشح مزارعهـا كما زاد نشاط تلك الإنزيمات بزيادة فترة التحضين من ٧ إلى ٢١ يوماً كما كان نشاط تلك الإنزيمات أعلى في ميسيليوم ورواشح الفطر سكليروشيوم رولفزياي يليه الفطريات ريزوكتونيا فراجاريا ، ماكروفومينا ، ريزوكتونيـا سـولاني ، فيوزاريوم سولاني ، بيثيوم على التوالي .

٩. سببت جميع المحثات الغير حية (الكيماوية) المجربة نقصاً ملحوظاً في النـسب المئوية للنباتات الميتة مقارنة بمعاملة الكنترول . وفي هذا الخـصوص كانـت أفضل النتائج خاصة بعد ٤٥ يوماً من الزراعة مـصاحبة لاسـتعمال حـامض الساليسيليك وحمض الأسكوربيك ضد الفطر سكليروشيوم رولفزياي وكبريتـات النحاس وحمض البوريك ضد الفطر ريزوكتونيا فراجاريا وكبريتـات النحـاس وفوسفات البوتاسيوم ضد الفطر ريزوكتونيا سـولاني . وبـشكل عـام كـان الاستعمال المزدوج لتلك المحثات الكيماوية (غمـر جـذور + رش المجمـوع الخضري) أكثر فعالية في تقليل نسبة موت النباتات خاصة الناتجة عن الفطريات سكليروشيوم وريزوكتونيا فراجاريا مقارنة بأي من طريقتي الغمر أو الرش كل على انفراد . أيضاً أدت جميع المحثات الحيوية المختبرة إلى نقص معنوي فـي نسبة النباتات الميتة خاصة بعد ٢١ يوماً من الزراعة وكان أفضلها فـي ذلـك الفطر تريكودرما هاريزيانم ثم البكتيريا بسيدوموناس فلوريـسنس ، باسـيللس ستلس ، شاي الكومبوشا ، ستربتومايسيس اوروفاشينس على التوالي .

١٠.أدت جميع المحثات الكيماوية المجربة إلى زيادة ملحوظة في أطوال ساق وجذر النباتات المعاملة مقارنة بغير المعاملة وقد أعطت طريقة التطبيق المزدوجة لتلك المحثات أفضل النتائج يليها طريقة غمر الجذور ثم طريقة الرش على التوالي وفي هذا الخصوص أعطت معاملة بالإيثيفون أفضل النتائج بينما كانت معاملة البويون الأقل كفاءة في التربة الملوثة بأي من الفطريات سكليروشيوم أو ريزوكتونيا فراجاريا أو ريزوكتونيا سولاني . وبالنسبة للمحثات الحيوية سجلت المعاملة بشاي الكومبوشا أكبر زيادة في طول الساق تلاها المعاملة بالبكتيريا باسيللس ستلس بينما كانت البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس الأقل كفاءة في هذا الخصوص . ومن ناحية أخرى سجل فطر التضاد تريكودرما هاريزيانم أفضل القياسات بالنسبة لطول الجذر يليه البكتيريا باسيللس ستلس ثم بسيدوموناس فلوريسنس بينما سببت المعاملة بشاي الكومبوشا أقل زيادة في طول الجذر مقارنة بمعمالات الكنترول .

١١.سببت المعاملة بالمبيد ريزولكس-ت ، إيثيفون أو فوسفات البوتاسيوم الحامضية بشكل عام أعلى زيادات في الأوزان الغضة للساق والجذر بينما سببت المعاملة بحمض الإسكوربيك ضد الفطر سكليروشيوم رولفزياي ، حمض الساليسيليك ضد الفطريات ريزوكتونيا فراجاريا أو ريزوكتونيا سولاني أقل الزيادات مقارنة بمعاملات الكنترول . وعموما سجلت طريقة التطبيق المزدوج لفوسفات البوتاسيوم الحامضية ضد الفطر سكليروشيوم ، الإيثيفون ضد الفطر ريزوكتونيا فراجاريا ، الإيثيفون أو البويون ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني أعلى زيادات في الوزن الغض للجذور بينما سجلت أقل الزيادات عند استعمال طريقة الرش بالبويون ضد الفطر سكليروشيوم ، وكبريتات المغنيسيوم ضد الفطر ريزوكتونيا فراجاريا وحمض الساليسيليك ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني . أيضا سببت جميع المحثات الحيوية المجربة زيادة معنوية في الوزن الغض لكل من الساق والجذر مقارنة بمعاملة الكنترول ولقد سجلت البكتريا ستربتوميسيس اوروفاشينس وبسيدوموناس فلوريسنس الأفضل في هذا الخصوص يليهما البكتيريا باسيللس ستلس ثم الفطر تريكودرما هاريزيانم أما المعاملة بشكل الكومبوشا خاصة ضد الفطريات ريزوكتونيا فارجاريا وريزوكتونيا سولاني فقد

سببت أقل زيادة في الوزن الغض للساق بينما قللت من الوزن الغض للجـذور مقارنة بمعاملة الكنترول .

١٢. أدى استعمال طريقة التطبيق المزدوج للإيثيفـون (ضـد أي مـن الفطريـات الممرضة تحت الدراسة) إلى أعلى زيادة في الوزن الجاف لكـل مـن الـساق والجذر مقارنة بمعاملة الكنترول . أيضاً أدى استعمال المحثات الحيويـة إلـى زيادة الوزن الجاف لكل من الساق والجذر وبغض النظر عـن نوعيـة الفطـر الممرض سببت البكتيريا ستربتوميسيس اوروفاشينس وبسيدوموناس فلوريسنس أعلى زيادة في هذا الخصوص يليهما البكتيريا باسيللس ستلس والفطر تريكودرما هاريزيانم بينما سببت المعاملة بشاي الكومبوشا أقل زيادة في الـوزن الجـاف للجذور ولم يكن لها أية تأثيرات معنوية على الوزن الجـاف للـساق مقارنـة بمعاملة الكنترول .

١٣. أدت المعاملة بمعظم المحثات الكيماوية المجربة إلى زيادة معنويـة فـي نـسبة المادة الجافة بكل من الساق والجذر مقارنة بمعاملات الكنترول . وبغض النظر عن المسببات المرضية أدت طريقة التطبيق المزدوج بالإيثيفون إلى أعلى زيادة في نسبة المادة الجافة بالساق بينما كانت أعلى زيادة للمـادة الجافـة بالجـذور مصاحبة لاستعمال نفس طريقة التطبيق المزدوج ولكن بكبريتات النحاس (ضـد الفطريات سكليروشيوم ، ريزوكتونيا سـولاني) أو الإيثيفـون (ضـد الفطـر ريزوكتونيا سولاني) . أما بالنسبة للمحثات الحيوية فقد سببت المعاملة بالبكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس وبسيدوموناس فلوريسنس أعلى زيادات في نـسب المادة الجافة بالساق والجذور . وقد سبب شاي الكومبوشا أقل زيـادة معنويـة لنسبة المادة الجافة بالجذور بينما قللتها معنوياً فـي الـساق مقارنـة بمعاملـة الكنترول .

١٤. أدت جميع المحثات الكيماوية المجربة (فيما عدا استثناءات قليلة) إلـى زيـادة ملحوظة في محتوى الساق والجذر من السكريات مقارنة بالكنترول . وعمومـاً فقد أدى استعمال المبيد ريزولكس-ت ضد أي من الفطريات الممرضـة تحـت الاختبار إلى أعلى زيادة في السكريات الكلية (المختزلة وغير المختزلة) بالساق بينما أدى استعمال حمض الساليسيليك بطريقة التطبيق المزدوج إلى أعلى زيادة

في هذه السكريات بالجذور . أيضاً أدى استعمال المحثات الحيوية المجربة إلى زيادة هذه السكريات بكل من الساق والجذر مقارنة بالكنترول وكانت المعاملة بالفطر تريكودرما هاريزيانم أو البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس الأفضل في هذا الخصوص يليهما البكتيريا باسيللس ستلس ، شاي الكومبوشا ثم البكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس .

١٥.كان لاستعمال المحثات الكيماوية وكذلك طريقة التطبيق المستعملة تأثيرات متفاوتة على محتوى الساق والجذر من المواد الفينولية الحرة . ففي التربة الملوثة بالفطر سكليروشيوم رولفزياي زادت الفينولات الحرة باستعمال المبيد ريزولكس-ت ، الإيثيفون ، حمض الساليسيليك وحمض الأسكوربيك فقط بينما أنقصتها باقي المحثات وقد لوحظ نفس السلوك في التربة الملوثة بالفطريات ريزوكتونيا فارجاريا أو ريزوكتونيا سولاني (عدا استثناءات قليلة) . أيضاً أدى استعمال المحثات الحيوية ضد الفطر سكليروشيوم (عدا البكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس وشاي الكومبوشا) إلى زيادة الفينولات الحرة في الساق بينما أدى استعمال البكتيريا باسيللس ستلس ضد الفطر ريزوكتونيا فارجاريا إلى أكبر زيادة في محتوى الجذور من الفينولات الكلية والحرة والمرتبطة وكذلك محتوى الساق من الفينولات الكلية والحرة .

١٦.أدى استعمال جميع المحثات الكيماوية عدا البويون ، حمض البوريك أو الإيثيفون ضد أي من الفطريات الممرضة تحت الدراسة وكذلك فوسفات البوتاسيوم ضد الفطر سكليروشيوم إلى زيادة واضحة في كمية الأحماض الأمينية بالساق والجذر. وفي جميع الأحوال كانت كمية الأحماض الأمينية الكلية أعلى عند استخدام طريقة التطبيق المزدوج مقارنة بطريقة غمر الجذور أو رش المجموع الخضري كما سببت كبريتات النحاس بشكل عام أكبر زيادة في هذا الخصوص يليها استعمال حمض الأسكوربيك ضد الفطريات سكليروشيوم وريزوكتونيا فارجاريا وكبريتات المغنيسيوم ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني . أيضاً أدت جميع المحثات الحيوية المجربة ضد أي من الفطريات الممرضة إلى زيادة الأحماض الأمينية الكلية بالجذر والساق مقارنة بالكنترول (الغير معامل) . وبشكل عام كانت البكتيريا باسيللس ستلس الأكثر فعالية بينما كان شاي الكومبوشا الأقل فعالية في هذا الخصوص .

١٧.أدى استعمال بعض المحثات الكيماوية إلى تحفيز بناء أحماض أمينية جديدة مثل البرولين (حمض الساليسيليك ، حمض البوريك ، حمض الأسكوربيك وكبريتات النحاس) ، فينايل الانين (حمض البوريك ، فوسفات البوتاسيوم الحامضية ،

البويون والإيثيفون) ، تربتوفان (حمض البوريك ، كبريتات المغنيسيوم) ، فالين، ليوسين ، لايسين (حمض البوريك) . لوحظ نفس الشيء عند استعمال المحثات الحيوية مثل تحفيز تكون الحمض الأميني سيرين عند استخدام البكتيريا باسيللس ستلس والأحماض الأمينية هستيدين ، أرجنين ، برولين ، فينايل الانين التي تكونت فقط عند استعمال شاي الكومبوشا . أيضاً حفزت البكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس وكذلك شاي الكومبوشا تكون الأحماض الأمينية ميثيونين ، فالين ، تربتوفان .

١٨. أدت جميع المحثات الكيماوية المجربة إلى زيادة محتوى الجذور من اللجنين مقارنة بمعاملة الكنترول . وبشكل عام أدت طريقة التطبيق المزدوج لحمض الساليسيليك ضد الفطريات ريزوكتونيا فراجاريا أو ريزوكتونيا سولاني إلى أعلى زيادة في المحتوى اللجنيني يليه استعمال حمض الأسكوربيك ثم المبيد ريزولكس-ت على الترتيب . أيضاً أدت جميع المحثات الحيوية المجربة وبغض النظر عن المسببات المرضية تحت الاختبار إلى زيادة محتوى الجذور من اللجنين وكانت البكتيريا باسيللس ستلس الأكثر فعالية في هذا الخصوص يليها البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس ، ستربتوميسيس أوروفاشينس ، تريكودرما هاريزيانم ثم شاي الكومبوشا على التوالي .

١٩. سببت جميع المحثات الكيماوية والحيوية المجربة ضد الفطر سكليروشيوم رولفزياي إلى زيادة واضحة في محتوى جذور النباتات المعاملة من حامض الساليسيليك والفيتوألكسينات (الأيزوفلافونات) بالمقارنة مع جذور نباتات الكنترول . وبالنسبة للمحثات الكيماوية كان حمض الساليسيليك والمبيد ريزولكس-ت الأكثر فعالية هذا الخصوص يليها أحماض البوريك والأسكوربيك ثم الإيثيفون وكبريتات النحاس على التوالي . أما بالنسبة للمحثات الحيوية فقد كان الفطر تريكودرما هاريزيانم الأكثر تحفيزاً لتكوين تلك المركبات يليه البكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس ، باسيللس ستلس ، ستربتوميسيس أوروفاشينس ثم شاي الكومبوشا على التوالي .

٢٠. سبب استعمال المحثات الكيماوية المجربة بطريقة التطبيق المزدوج زيادات واضحة في نشاط إنزيم بيروكسيداز في الجذر والساق مقارنة بطريقة غمر الجذور أو رش المجموع الخضري . وقد سببت المعاملة بحمض الأسكوربيك (ضد أي من الفطريات الممرضة تحت الدراسة) أعلى نشاط لهذا الإنزيم في الساق بينما سبب استعمال كبريتات النحاس ضد الفطر سكليروشيوم رولفزياي وحمض الأسكوربيك ضد الفطر ريزوكتونيا فارجاريا وكبريتات النحاس أو المبيد ريزولكس-ت ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني أعلى نشاط له في الجذور .

أيضاً زاد نشاط هذا الإنزيم بالجذر والساق نتيجة المعاملة بالمحثات الحيوية وكانت البكتيريا باسيللس ستلس ، ستربتوميسيس أوروفاشينس الأكثر فعالية لزيادة نشاط الإنزيم في الساق والجذر على الترتيب .

٢١. كان للمعاملة بالمحثات الكيماوية تأثيرات متفاوتة على نشاط الإنزيم بولي فينول أوكسيداز بالجذر والساق حيث أدت معظم المعاملات إلى تقليل نشاط هذا الإنزيم بكل من الساق والجذر فيما عدا كبريتات المغنيسيوم ، وأحماض الساليسيليك والأسكوربيك (ضد أي من الفطريات الممرضة) وكذلك حمض البوريك والإيثيفون (سكليروشيوم رولفزياي) ، فوسفات البوتاسيوم الحامضية (ريزوكتونيا فراجاريا) التي أدت إلى زيادة نشاطه في الساق وكبريتات المغنيسيوم (سكليروشيوم رولفزياي) وحمض الساليسيليك (ريزوكتونيا فراجاريا) التي أدت إلى زيادة نشاطه بالجذور . أما بالنسبة للمحثات الحيوية فقد زاد نشاط هذا الإنزيم في الساق فقط نتيجة استعمال البكتيريا باسيللس ستلس (ضد أي من الفطريات الممرضة المختبرة) وكذلك بسيدوموناس فلوريسنس ، ستربتوميسيس أوروفاشينس ضد الفطريات ريزوكتونيا فراجاريا وريزوكتونيا سولاني بينما قلل الفطر تريكودرما هاريزيانم وشاي الكومبوشا من هذا النشاط مقارنة بمعاملة الكنترول . هذا وقد لوحظت تأثيرات مماثلة لتلك المحثات الحيوية على نشاط هذا الإنزيم بالجذور .

٢٢. سببت جميع المحثات الكيماوية المجربة زيادة واضحة في نشاط الإنزيم شيتيناز بالجذر والساق خاصة عند استعمال طريقة التطبيق المزدوج مقارنة بالكنترول غير المعامل أو بطرق غمر الجذور أو رش المجموع الخضري . أيضاً أدى استعمال جميع المحثات الحيوية المجربة إلى زيادة نشاط هذا الإنزيم في الساق . وبغض النظر عن المسببات الممرضة سبب الفطر تريكودرما هاريزيانم أعلى زيادة في نشاط هذا الإنزيم في الساق يليه بسيدوموناس فلوريسنس ، باسيللس ستلس ، ستربتوميسيس أوروفاشينس ثم شاي الكومبوشا على التوالي . أما نشاطه في الجذور فقد زاد فقط نتيجة استعمال الفطر تريكودرما هاريزيانم والبكتيريا بسيدوموناس فلوريسنس ، ستربتوميسيس أوروفاشينس .

٢٣. أدت جميع المحثات الكيماوية المجربة خاصة عند استخدام طريقة التطبيق المزدوج إلى زيادة مستوى نشاط الإنزيم بيتا-جلوكاناز في الساق والجذر مقارنة بالكنترول . وكانت فوسفات البوتاسيوم الحامضية والمبيد ريزولكس-ت وحمض الأسكوربيك الأكثر فعالية في هذ الخصوص . أيضاً كان لاستعمال المحثات الحيوية المجربة ضد أي من الفطريات الممرضة تحت الدراسة تأثيرات مماثلة على نشاط هذا الإنزيم حيث سبب الفطر تريكودرما هاريزيانم أعلى نشاط

للإنزيم في الساق يليه البكتيريا بسيدوموناس فلوريسينس ، باسيللس ستلس ،ستربتوميسيس أوروفاشينس ثم شاي الكومبوشا على الترتيب . أيضاً سببت معظم تلك المحثات الحيوية خاصة الفطر تريكودرما هاريزيانم زيادة نشاط الإنزيم في الجذور بينما لوحظ قلة النشاط عند استعمال البكتيريا باسيللس ستلس ضد أي من المسببات الممرضة تحت الدراسة وكذلك البكتيريا بسيدوموناس فلوريسينس ضد الفطر سكليروشيوم رولفزياي وشاي الكومبوشا ضد الفطر ريزوكتونيا سولاني .

٢٤. أدت استعمال المحثات الكيماوية المجربة ضد المسببات الممرضة تحت الدراسة خاصة المبيد ريزولكس-ت وحمض الساليسيليك والبوبون إلى زيادة واضحة في نشاط الإنزيمات ديهيدروجيناز ، سيليولاز ، فوسفاتاز في التربة المنزرعة بالنباتات المعاملة بعد ٨ يوم من الزراعة مقارنة بتربة نباتات المقارنة الغير معاملة أو بعد ٣٠ يوماً من الزراعة وكذلك باستخدام طريقة التطبيق المزدوج مقارنة بطرق غمر الجذور أو رش المجموع الخضري بتلك المحثات . وكان للمحثات الحيوية المجربة تأثيرات مماثلة على نشاط تلك الإنزيمات . وبشكل عام كانت البكتيريا باسيللس ستلس (ضد أي من المسببات الممرضة تحت الدراسة) الأكثر تحفيزاً لنشاط إنزيمات ديهيدروجيناز وفوسفاتاز في التربة بينما كانت البكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس الأكثر فعالية لزيادة نشاط إنزيم سيليولاز في التربة .

٢٥. أدت معاملة النباتات بجميع المحثات الكيماوية والحيوية المجربة ضد المسببات الممرضة تحت الدراسة إلى زيادة تعداد الكائنات الدقيقة في التربة المنزرعة بها تلك النباتات حيث لوحظت زيادات مضطردة بمرور الوقت بعد الزراعة في التعداد الكلي لميكروبات التربة ، فطريات التربة ، البكتيريا ، الأكتينوميسيتات ، الأزوتوباكتر ، بكتيريا النترتة والبكتيريا المتجرثمة بدرجات متفاوتة تبعاً لنوع المحث المستعمل (كيماوي أو حيوي) وكذلك طريقة المعاملة ونوع الفطر الممرض وفي جميع الحالات كان تعداد تلك الكائنات أكبر بعد ٣٠ ، ٦٥ يوماً من زراعة النباتات المعاملة في حالة المحثات الكيماوية والحيوية على الترتيب مقارنة بتعدادها بعد ٨ يوم من الزراعة .

٢٦. أدت جميع المحثات الكيماوية والحيوية المجربة تحت ظروف الحقل خلال موسمي ٢٠٠٤ ، ٢٠٠٥ إلى نقص معنوي في نسبة موت النباتات المقدرة بعد ٢١ ، ٤٥ يوماً من الزراعة في كلا الموسمين بالمقارنة مع معاملات الكنترول . وفي هذا الخصوص كان المبيد ريزولكس-ت أفضل المعاملات في خفض نسبة

موت النباتات (بعد ٢١ و ٤٥ يوماً) في موسم ٢٠٠٤ يليه حمض الساليسيليك وحمض الأسكوربيك (بعد ٢١ يوماً) وحمض البوريك وحمض الأسكوربيك وحمض الساليسيليك (بعد ٤٥ يوماً) . أما في الموسم ٢٠٠٥ فقد كان المبيد ريزولكس-ت أفضل المعاملات بعد ٢١ يوماً يليه كبريتات النحاس وحمض الأسكوربيك . وبشكل عام كانت طريقة التطبيق المزدوج لتلك المحثات أكثر فعالية في خفض نسبة موت النباتات مقارنة بطريقتي غمر الجذور أو رش المجموع الخضري على التوالي . أيضاً أدت المعاملة بجميع المحثات الحيوية المجربة إلى نقص معنوي في نسبة موت النباتات المقدرة بعد ٢١ و ٤٥ يوماً من الزراعة وكان الفطر تريكودرما هاريزيانم الأكثر فعالية في هذا الخصوص يليه البكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس ، باسيللس ستلس ، بسيدوموناس فلوريسينس ثم شاي الكومبوشا على الترتيب .

٢٧. أيضاً أدت جميع المحثات الكيماوية والحيوية المجربة تحت ظروف الحقل خلال موسمي ٢٠٠٤ ، ٢٠٠٥ إلى زيادة معنوية في محصول ثمار الفراولة في كلا الموسمين بالمقارنة مع معاملات الكنترول وكان المبيد ريزولكس-ت أفضل المعاملات في كلا الموسمين يليه حمض الأسكوربيك ، حمض الساليسيليك وكبريتات النحاس في الموسم ٢٠٠٤ وحمض البوريك وحمض الأسكوربيك وكبريتات المنجنيز على التوالي في الموسم ٢٠٠٥ بينما أنتجت المعاملة بالإيثيفون والبويون أقل زيادة في محصول الثمار في كلا الموسمين مقارنة بالكنترول وفي جميع الأحوال كان المحصول الأعلى من الثمار مصاحباً لاستعمال طريقتي رش المجموع الخضري أو غمر الجذور بدون فروق معنوية بينهما بينما كانت طريقة رش المجموع الخضري الأفضل في الموسم الثاني يليها طريقة غمر الجذور ثم طريقة التطبيق المزدوج على الترتيب . أيضاً أدت المعاملة بجميع المحثات الحيوية المجربة إلى زيادة معنوية في محصول الثمار في كلا الموسمين مقارنة بمعاملات الكنترول وكانت المعاملة بالبكتيريا ستربتوميسيس أوروفاشينس أو الفطر تريكودرما هاريزيانم الأفضل لزيادة المحصول في كلا الموسمين يليهما البكتيريا باسيللس ستلس ، بسيدوموناس فلوريسينس ثم شاي الكومبوشا على الترتيب .

رابع عشر : "دراسات على بعض النباتات الطبية كمصدر للمضادات الفطرية في شمال أفريقيا" .

رسالة مقدمة من الطالب / أحمد علي عبد الباقي للحصول على درجة الماجستير في الدراسات الإفريقية – الموارد الطبيعية (أمراض نبات) عام ١٩٩٩ تحت إشراف : أ.د. مصطفى إمام محمود ، أ.د. عرفة عبد الجليل هلال ، أ.د. خيري عبد المقصود عبادة .

تهدف الدراسة إلى البحث في النباتات الطبية الموجودة في القارة الإفريقية عامة وفي جمهورية مصر العربية بصفة خاصة عن مصادر جديدة يمكن بها مقاومة بعض مسببات أمراض المحاصيل الهامة في القارة مثل القطن الذي يصاب بالذبول وموت البادرات ... الخ . وقد توصلت الدراسة إلى النقاط الآتية :

١. كان للمواد المتطايرة من البراعم الزهرية لنبات القرنفل أكبر الأثر في تثبيط النمو الميسيليومي لفطري فيوزاريوم اكسيسبوريوم فازنفكتم وريزوكتونيا سولاني وتلى ذلك تأثير كل من بذور الكمون واليانسون ثم أعشاب البردقوش .
٢. لم يكن هناك تأثير لأوراق نبات الكرات على النمو الميسيليومي لكل من الفطرين، كذلك لم يكن هناك تأثير لبذور الكذبرة على الفطر فيوزاريوم اكسيسبوريوم فازنفكتم .
٣. الزيوت الطيارة لكل من نباتات القرنفل واليانسون والكراوية والكمون والشمر والنعناع الياباني ثبطت تماماً النمو الميسيليومي لكل من الفطرين المختبرين .
٤. زيوت كل من نباتات حبة البركة والكزبرة كانت أقل تأثيراً من باقي الزيوت حتى عندما استخدمت بأوزان كبيرة .
٥. كان تأثير الزيوت الطيارة لكل من نباتات القرنفل والكمون قوياً وثبطت النمو الميسيليومي لكل من الفطرين بقوة حتى عندما استخدمت بأوزان قليلة تلاهما زيوت النعناع الياباني ثم اليانسون فالكراوية .
٦. التأثير التثبيطي للزيوت الطيارة للنباتات المختبرة كان يزداد بزيادة الأوزان المستخدمة من الزيت .
٧. أقل تركيز أحدث تثبيطاً لنمو الفطرين تحت الاختبار كان ١٠٠٠ جزء في المليون لكل من زيوت اليانسون والقرنفل والكمون ، كان ٢٠٠٠ جزء في المليون لزيت النعناع الياباني ثم ٣٠٠٠ جزء في المليون لزيت البردقوش .
٨. العصير النباتي لكل النباتات المختبرة أظهر نشاطاً تثبيطياً تجاه الفطرين تحت الاختبار عدا مستخلصات حبة البركة والخروع والكرات بالنسبة للفطر فيوزاريوم اكسيسبوريوم فازنفكتم ، والخروج بالنسبة للفطر ريزوكتونيا سولاني.

٩. المستخلص المائي البارد والساخن للبراعم الزهرية للقرنفل كانت أقوى تأثيراً من باقي النباتات المستخدمة .

١٠.المستخلص المائي الساخن لنباتات الكافور والبردقوش واليانسون والريحان تلت المستخلص المائي الساخن للقرنفل في تثبيط النمو الميسيليومي للفطرين .

١١.النشاط التثبيطي لكل من المستخلصات المائية الباردة والساخنة للنباتات المختبرة كان يزداد بزيادة تركيز استخدامها من ٢٥ – ٧٥% للمستخلص البارد ، ٢٥ – ١٠٠% للمستخلص الساخن .

١٢.كان لمستخلص المذيبات العضوية لنباتات الينسون والكافور والكراوية والقرنفل والكزبرة والكمون والشمر والنعناع الياباني والبردقوش والبرنوف نشاطاً تثبيطياً تجاه كل من الفطرين المختبرين أكثر من مستخلص المذيبات لكل من حبة البركة والخروع والكرات .

١٣.المستخلص العضوي لنباتي القرنفل والكمون أظهر تأثيراً قوياً ضد النمو الميسيليومي للفطرين حيث أعطيا نسبة تثبيط ١٠٠% تلاهما المستخلص العضوي لنبات الينسون .

١٤.المستخلصات النباتية بواسطة الأسيتون كانت أكثر تأثيراً من المستخلصات النباتية بواسطة الاثير البترولي .

١٥.استخدمت إفرازات البذور والجذور لكل من نباتي البردقوش والريحان كمواد مثبطة للنمو الميسيليومي للفطرين ووجد أن إفرازات بذور وجذور الريحان كانت أكثر تثبيطاً من إفرازات بذور وجذور البردقوش في حين كانت إفرازات جذور البردقوش أفضل من إفرازات جذور الريحان .

١٦.وجد أن أفضل معدل لزيادة إنبات بذور القطن باستخدام بودرة التلك المحملة بالزيت هو ٢٠ جم بودرة لكل كيلوجرام بذرة قطن بالنسبة لزيوت الينسون والكمون والبردقوش ، وكان ١٠ جم بودرة تلك محملة بالزيت بالنسبة للقرنفل وذلك لكل كجم بذرة قطن .

١٧.وجد أن نقع بذور القطن في العصير النباتي لنباتات الكمون والقرنفل والينسون أدت إلى زيادة إنبات بذور القطن زيادة معنوية .

١٨.وجد أن النسبة المئوية لإنبات بذور القطن تقل بزيادة فترة النقع في المستخلص المائي من نصف ساعة إلى ساعة وذلك للمستخلصات الباردة المستخدمة .

١٩.وجد أن معاملة بذور القطن بالزيوت الطيارة المحملة على بودرة التلك كبديل للمبيدات الكيماوية كان له أثر واضح في تقليل نسبة الإصابة بالذبول والخناق تحت ظروف الصوبة .

خامس عشر : "دراسات على النشاط التثبيطي للنباتات المختلفة ضد بعض المسببات المرضية"

رسالة مقدمة من السيد / محمد أحمد محمد بيومي للحصول على درجة العالمية (دكتوراه الفلسفة) في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من قسم النبات الزراعي – كلية الزراعة جامعة الأزهر عام ١٩٩٧ .

تهدف الدراسة إلى الكشف عن المواد ذات الأصل النباتي المثبطة لنمو الكائنات الممرضة بين أكبر عدد من النباتات الطبية والعطرية .. وغيرها ، وإمكانية استخدامها كبدائل للمبيدات الكيميائية حفاظاً على البيئة من التلوث وتحقيقاً لمطلب السوق الدولية في تداول منتجات زراعية غير معاملة بالمبيدات الكيميائية .

وقد توصلت الدراسة إلى نتائج أبرزها ما يلي :

١. تمتلك المواد الطيارة المنبعثة من بذور الكمون تليها أعشاب الزعتر فبذور الينسون فالبراعم الزهرية للقرنفل فأوراق حشيشة الليمون أعلى قدرة تثبيطية على النمو الميسيليومي لجميع الفطريات المختبرة .

٢. ثبطت أبخرة الزيوت الطيارة للكمون والزعتر النمو الميسيليومي تثبيطاً كاملاً لجميع الفطريات المختبرة ، أما أبخزة زيوت الينسون وحشيشة الليمون فقد ثبطت بالكامل نمو أغلب هذه الفطريات .

٣. ثبط الزيت الطيار لنبات الزعتر النمو الميسيليومي تثبيطاً كاملاً لجميع الفطريات المختبرة ، بينما أعطت زيوت الكمون والينسون والقرنفل نفس النتيجة ضد أغلب هذه الفطريات .

٤. كانت أكثر الزيوت الطيارة تثبيطاً لإنبات جراثيم الفيوزاريوم هي على الترتيب زيوت الزعتر وحشيشة الليمون والكمون والينسون .

٥. كانت زيوت الزعتر والينسون أفضل الزيوت تثبيطاً لإنبات الأجسام الحجرية لفطري الريزوكتونيا والماكروفومينا .

٦. ثبطت جميع المستخلصات المائية المستخدمة للنمو الفطري لواحد أو أكثر من الفطريات المختبرة ، ولوحظ أن التأثير المثبط يزداد بزيادة تركيز المستخلص ، وكان مستخلص القرنفل عند تركيز ٢٥% هو المؤثر وحده ضد نمو جميع الفطريات تحت الاختبار ، بينما أضيف إليه مستخلص الينسون في تأثيره المثبط لجميع الفطريات عند التركيز ٧٥% .

٧. كان المستخلص المائي الساخن لبذور الينسون وعشب الزعتر والبراعم الزهرية للقرنفل وسبلات الكركديه فعالاً تماماً ضد نمو جميع الفطريات تحت الاختبار . لم يظهر للمستخلص المائي الساخن لليوفوربيا والزنزلخت أي تأثير مثبط ضد النموات الفطرية .

٨. أثر الزيت الطيار للزعتر كمبيد فطري ضد نمو كل من الفيوزاريوم فازنفكتم والفيوزاريوم مونيليفورم ، الرايزوكتونيا سولاني ، الفيتوفثورا نيكوتيانا بارازيتيكا . كما أثر الزيت الطيار للكمون كمبيد فطري أيضاً ضد نمو الفطر فيوزاريوم مونيليفورم . أما بقية الزيوت الطيارة المستخدمة فقد كان تأثيرها موقفاً للنمو الفطري فقط .

٩. أثرت الزيوت الطيارة لكل من الزعتر والكمون والينسون والبردقوش كمواد قاتلة ضد الأجسام الحجرية المختبرة ، بينما أثرت الزيوت الطيارة لكل من النعناع الياباني والفلية والريحان الحلو والعتر كمواد مثبطة فقط لإنبات الأجسام الحجرية السابقة .

١٠.سبب المنقوع المائي لكل من الكمون والقرنفل والكركديه والينسون والزعتر عند التركيز ٧٥% تثبيطاً تاماً لنمو فطر الفيوزاريوم مونيليفوم والرايزوكتونيا سولاني والفيتوفثورا نيكوتيانا بارازيتيكا .

١١.أدت تغطية البذور بتركيزات من الزيوت النباتية إلى تطهيرها من الفطريات المحمولة وزيادة نسبة إنباتها وكذا زيادة طول الجذير الناتج ، وكان أفضل تركيز عند استخدام زيوت الكمون والبردقوش والينسون محملاً على بودرة التلك هو ٢٠ جم/كجم بذرة بينما كان أفضل تركيز عند استخدام زيوت القرنفل والزعتر هو ١٠ جم/كجم بذرة .

١٢.أدى نقع البذور في المستخلص المائي لكل من الكمون والقرنفل والكركديه والينسون والزعتر عند التركيز ٥٠% لمدة نصف ساعة إلى أفضل النتائج بالنسبة لتطهير البذور المعاملة من الفطريات المحمولة وكذا زيادة نسبة الإنبات وطول الجذير .

١٣.في تجربة أطباق تحت الظروف المعملية أدت تغطية البذور بالزيوت النباتية المحملة على بودرة التلك لكل من الكمون والقرنفل والبردقوش والينسون والزعتر إلى زيادة نسبة وقاية البذور من مهاجمة الفطريات . كما أدى نقع البذور في أي من المستخلصات المائية النباتية إلى ظهور مناطق تثبيط للنمو الفطري المحيط بها .

١٤.أدت تغطية البذور بمستحضرات الزيوت الطيارة إلى تقليل نسبة سقوط البادرات قبل وبعد الإنبات الناتجة عن الفطر ماكروفومينا فاسولينا وذلك بالنسبة لبادرات فول الصويا وعباد الشمس ، والناتجة عن الفطر رايزوكتونيا سولاني وذلك بالنسبة لبادرات القطن وعباد الشمس والكركديه ، وكذا الناتجة عن فطر فيتوفثورا نيكوتيانا بارازيتيكا ضد بادرات الكركديه .

سادس عشر : "دراسات على ظاهرة المقاومة المكتسبة للمبيدات الفطرية في بعض الفطريات المسببة لأعفان جذور الفاصوليا" .

رسالة مقدمة من السيد / سامي حسين مصطفى حسين للحصول على درجة الماجستير في العلوم الزراعية (أمراض نبات) من قسم أمراض النبات – كلية الزراعة جامعة القاهرة عام ١٩٩٧ .

يعتبر محصول الفاصوليا واحداً من أهم محاصيل الخضر في مصر ، حيث بلغت المساحة المنزرعة سنة ١٩٩٥ حوالي ٤٠ ألف فدان أنتجت حوالي ١٦٥٥٦٧ طن . ويصاب نبات الفاصوليا عادة بعديد من الأمراض مثل أعفان السوق ، وأعفان الجذور والتي تسببها عديد من فطريات التربة . وتعتمد مقاومة هذه الأمراض على استخدام المبيدات الفطرية في معاملة البذور أو التربة ، إلا أن أهم المشاكل التي تواجه المقاومة الكيماوية عامة هو قدرة المسبب المرضي على إنتاج سلالات مقاومة للمبيدات المستخدمة خاصة تلك التي يتقرر استخدامها في نفس المكان لعدة مواسم . ولقد استهدفت هذه الدراسة التعرف على إمكانية المسببين الممرضين (ماكروفومينا فاسولينا) و (سكليروشيوم رولفزياي) في إنتاج سلالات مقاومة لبعض المبيدات الفطرية ، مع دراسة مستويات المقاومة والعوامل المؤثرة على حدوث المقاومة المكتسبة للمبيدات الفطرية .

ويمكن إيجاز النتائج المتحصل عليها في الآتي :

١. أسفر العزل من جذور نباتات فاصوليا مصابة بالعفن عن عزل ٨٢ عزلة فطريات . وقد تم تنقية هذه الفطريات وعرفت على أنها : أنواع من الجنس فيوزاريوم ، الفطر ماكروفومينا فاسيولينا ، أنواع من الجنس بيثيم ، الفطر ريزوكتونيا سولاني ، الفطر سكليروشيوم رولفزياي . بالإضافة لذلك لم يكن هناك فرق كبير في تكرار وتواجد العزلات الفطرية المتحصل عليها بسبب اختلاف مكان جمع العينات المصابة .

٢. تم إجراء تجربة القدرة المرضية للفطريات المعزولة ووجد أن جميعها كان ممرضاً لنباتات الفاصوليا صنف جيزة ٣ ، وكان الفطرين سكليروشيوم رولفزياي ، ماكروفومينا فاسيولينا أكثرهم مرضية ولذلك يتم استخدام عزلات مختلفة منها في هذه الدراسة .

٣. تم عزل ١٠ عزلات من الفطر سكليروشيوم رولفزياي ، ٤ عزلات من الفطر ماكروفومينا فاسيولينا وقد تم إعطاء كل عزلة من هذه العزلات رقما كودياً . وعند إجراء تجربة القدرة المرضية لعزلات كل فطر فقد وجد أن العزلات SI_3- SSH_3 كان الأكثر مرضية بالنسبة للفطر سكليروشيوم رولفزياي أما العزلة MG_2 فكانت الأكثر مرضية بالنسبة للفطر ماكروفومينا فاسيولينا .

٤. أظهرت العشر عزلات الخاصة بالفطر اسكليروشيم رولفزياى درجات مختلفة بالنسبة لمقاومتها للمبيدات الفطرية المختبرة وهى بنليت ، ريزولكس ، مونسرين . كانت قيم (EC50) التركيز المثبط لنمو ٥٠% من النمو الفطرى متباينة بسبب اختلاف العزلة الفطرية وكذلك المبيد الفطرى المستخدم .

٥. أيضاً فقد أظهرت الأربع عزلات المختبرة للفطر ماكروفومينا فاسيولينا اختلافات كبيرة بالنسبة لمقاومتها للمبيدات الفطرية المختبرة وكذلك قيم EC50 .

٦. بدراسة الـ Cross resistance بين المبيدات الفطرية الثلاثة البنليت والريزولكس والمونسرين تبين عدم حدوث هذه الظاهرة مع عزلات الفطر سكليروشيم رولفزياى أو حدوثها بدرجة ضعيفة جداً ، بينما أظهرت عزلات الفطر ماكروفومينا فاصيولينا نتائج إيجابية بين المبيدات الفطرية الثلاثة فيما يخص هذه الظاهرة .

٧. عند دراسة تأثير التعريض المتكرر للفطر سكليروشيم رولفزياى للمبيدات الفطرية البنليت والريزولكس والمونسرين على اكتساب المقاومة وتطورها فقد تم تنمية الفطر لـ ٧ أجيال متعاقبة على بيئة مغذية تحتوى على تركيزات متدرجة لكل مبيد ، فقد تبين حدوث نقص فى معدل التثبيط للمبيدين الفطريين البنليت والريزولكس مع تكرار تعاقب الأجيال ، فقد انخفض معدل التثبيط لتركيز ٤٠٠ جزء فى المليون لمادة البينوميل (المادة الفعالة لمبيد البنليت) من ٨٦,٦٧% فى الجيل الأول إلى ٥,٩٣% فى الجيل السابع ونتيجة لذلك ارتفع التركيز اللازم لقتل ٥٠% من النمو الفطرى من ٢٣٢,٥٥ جزء فى المليون فى الجيل الأول إلى ٨٣٠,٧٧ جزء فى المليون فى الجيل السابع ، وارتفع كذلك عامل المقاومة من واحد صحيح فى الجيل الأول إلى ٣,٥٧ فى الجيل السابع لعزلة الفطر سكليروشيم رولفزياى SG10 . أما مع المبيد الفطرى الريزولكس فقد انخفض معدل التثبيط على تركيز واحد جزء فى المليون من ٩٧,٨% فى الجيل الأول إلى ٣,٧% فى الجيل السابع ، مما أدى لزيادة قيم الـ EC50 من ٠,٥٧ جزء فى المليون فى الجيل الأول إلى ١,٧٨ جزء فى المليون فى الجيل السابع ، كما ارتفع عامل المقاومة من واحد صحيح إلى ٣,١٢ فى الجيل السابع ومن جهة أخرى فقد أظهرت عزلة الفطر سكليروشيم روفلزياى تأثيرات ضعيفة على اكتساب صفة المناعة المكتسبة للمبيد الفطرى مونسرين .

٨. عند دراسة تأثير تعريض كلا من عزلتى SG2 , SG10 للفطر سكليروشيم رولفزياى (الحساستين للمبيدات الفطرية بنليت ومونسرين وريزولكس) للأشعة الفوق بنفسجية لفترات زمنية مختلفة (٠ ، ٥ ، ١٥ ، ٣٠ ، ٤٥ دقيقة) ثم

تنميتها على بيئات غذائية تحتوى على تركيزات مختلفة من المبيدات تبين ما يلى:

٨-١- اكتسب كلا العزلتان SG2 , SG10 مقاومة للمبيد الفطرى المونسرين واختلف التأثير بتباين فترات التعريض ، إلا أن العزلة SG2 فقد تأثرت بدرجة أكبر من العزلة SG10 وكان أعلى قيمة لعامل المقاومة هو ٤٢,٥ وقد تم الحصول عليه بتعريض العزلة SG2 للأشعة فوق البنفسجية لمدة ٤٥ دقيقة ، وأظهرت النتائج أيضاً أن تعريض العزلة SG2 للأشعة فوق البنفسجية لمدة ٥ دقائق أدت إلى زيادة عامل المقاومة إلى ٦,٧٢ مقارنة بواحد صحيح فى معاملة الكنترول ، بينما أدى تعريض نفس العزلة SG2 للأشعة الفوق بنفسجية لمدة ١٥ ، ٣٠ دقيقة إلى زيادة عامل المقاومة إلى ١,٩ ، ٢,٧٦ على الترتيب . أما بالنسبة للعزلة SG10 فقد أدى تعرضها للأشعة لمدة ٥ دقائق إلى زيادة درجة حساسيتها للمبيد الفطرى المونسرين بينما زاد عامل المقاومة إلى ٦,٦٦ ، ٧,٨٢ عند تعريض هذ العزلة للأشعة لفترات أطول وهى ١٥ ، ٤٥ دقيقة على الترتيب .

٨-٢- أظهرت النتائج أن تعريض العزلات SG2 , SG10 للأشعة فوق البنفسجية لم تؤثر بدرجة كبيرة على زيادة اكتساب صفة المقاومة سواء للمبيد الفطرى الريزولكس أو البنليت .

٩. عند دراسة تأثير درجات الحرارة على اكتساب المقاومة تبين ما يلى :

٩-١- أظهرت درجات الحرارة المختلفة تأثيراً طفيفاً على اكتساب صفة المقاومة بالنسبة لعزلة SG10 للفطر سكليروشيم رولفزياى بعد تعريضها للأشعة الفوق بنفسجية حيث تبين أن درجة الحرارة الأقل من المثلى (٢٥° م) أدى إلى زيادة مقاومة هذه العزلة للمبيد الفطرى المونسرين فقط وقد حدث تأثير مشابه عند تعريضها لدرجة الحرارة الأعلى من درجة الحراة المثلى (٣٥° م) حيث ارتفع عامل المقاومة من واحد صحيح على درجة الحرارة المثلى (٣٠° م) إلى ١,٨٤ على درجة ٢٥° م ، ١,٤٦ على درجة ٣٥°م.

٩-٢- أظهرت درجات الحرارة تأثيراً إيجابياً على اكتساب الفطر ماكروفومينا فاسيولينا للمقاومة ضد المبيد الفطرى المونسرين حيث أدت درجة الحرارة ٢٥° م إلى انخفاض عامل المقاومة إلى ٠,٨٣ مقارنة بواحد صحيح على درجة الحرارة المثلى (٣٢°م) كما انخفضت قيمة EC50 من ٤٨,٥٢ على درجة الحرارة المثلى إلى ٤٠,٥٢ على درجة الحرارة وعلى عكس ذلك ظهر تأثير عكسى لدرجات الحرارة الأعلى من درجة الحرارة المثلى (٣٧° م)

حيث زاد عامل المقاومة إلى ٢,٧٦ مقارنة بواحد صحيح على درجة الحرارة المثلى وزادت قيمة الـــ EC50 عند درجة الحرارة الأعلى من المثلى إلى ١٨,٧٦ على درجة ٣٧° مقارنة بـــ ٤٨,٥٢ على درجـــة الحـــرارة المثلـــى (٣٢°م) .

٩-٣- أظهرت درجات الحرارة تأثيراً طفيفاً على اكتساب صفة المقاومة فى الفطر ماكروفومينا فاسيولينا للمبيد الفطرى الريزولكس وارتبطت صـــفة اكتســـاب المقاومة إيجابياً بازدياد درجات الحرارة فدرجات الحرارة المنخفضة الأقـــل عن المثلى (٢٥° م)أدت إلى نقص عامل المقاومـــة والـــــ EC50 إلـــى ٠,٩٧ ، ١٥٠ جزء فى المليون على الترتيـــب مقارنـــة بواحـــد صـــحيح ، ١٥٣,٤١ جزء فى المليون على درجة الحرارة المثلى (٣٢°م) ، كمـــا أدى التعريض لدرجة الحرارة أعلى من المثلى (٣٧° م) إلـــى زيـــادة عامـــل المقاومة إلى ١,٣٧ ، وزيادة قيمة EC50 إلى ٢١١,٥٤ جزء فى المليون .

٩-٤- أظهرت درجات الحرارة تأثيراً عكسياً على اكتـــساب الفطـــر ماكروفومينـــا فاسيولينا لصفة المقاومة للمبيد بنليت كمقارنة بتأثيرها على اكتـــساب صـــفة المقاومة لكل من المبيدين مونسرين أو ريزولكس ، ولقـــد ارتبطـــت درجـــة المقاومة سلبياً بزيادة درجات الحرارة ، فدرجة الحرارة الأقل مـــن المثلـــى (٢٥° م) أدت لزيادة عامل المقاومة والـــــ EC50 إلـــى ١,١٢ ، ٢,٥٣ جزء فى المليون على الترتيب وذلك بالمقارنة واحد صـــحيح ، ٢,٢٤ علـــى درجة حرارة المثلى (٣٢° م) فأدى تعريض الفطر لدرجة الحرارة الأعلى من المثلى (٣٧° م) إلى تناقص عامل المقاومة إلى ٠,٨٩ وانخفاض قيمـــة EC50 إلى٢ جزء فى المليون .

١٠.تبين أن اكتساب صفة المقاومة للمبيدات الفطريـــة لـــه تـــأثير علـــى الـــصفات المورفولوجية للفطرين محل الدراسة :

١٠-١- العزلة المقاومة من الفطر ماكروفومينا فاسيولينا (MB1) تميزت بمعدل نمو أسرع وإنتاج غزير للأجسام الحجرية ، وقد تراوح متوسط نصف قطر الجسم الحجرى فيها٨٤,٥ ميكرون مع تميز النمو الفطرى بلـــون رمـــادي داكن ووجود حواف دائرية بيضاء اللون قطنية المظهر .

١٠-٢- أظهرت العزلة المقاومة من الفطر سكليروشيم رولفزياى (SI3) معـــدلا أبطأ فى النمو عن العزلة الحساسة (SG10) وإنتاجـــا غزيـــرا للأجـــسام الحجرية كما تميزت هذه العزلة المقاومة بنمو أبيض اللون قطنى المظهـــر مع تركيز تكوين الأجسام الحجرية فى مركز الطبق ، وتميـــزت الأجـــسام

الحجرية فيها بأنها أقل وزناً من العزلة الحساسة ، وكان متوسط نصف قطر الجسم الحجرى ١,١٧ سنتيمتر .

١١.تم تقدير النشاط الانزيمى لإنزيمات السيليوليز (CX) وبولى جلاكنزونيز (PG) وبكتير ميثيل استريز (PME) فى عزلة حساسة وأخرى مقاومة لكلا من الفطرين محل الدراسة وتبين أن :

١١-١- تزايد النشاط الانزيمى لإنزيمات (CX) , (PG) فى العزلة المقاومة لقطر سكليروشيم رولفزياى (MI3) عنها فى العزلة الحساسة (SG10) بينما أظهرت النتائج عكس ذلك بالنسبة للنشاط الإنزيمى لإنزيم (PME) حيث كان نشاط الإنزيم فى العزلة المقاومة أقل منها فى العزلة الحساسة .

١١-٢- أظهرت العزلة المقاومة من الفطر ماكروفومينا فاسيولينا (MB1) نشاطاً إنزيمياً أقل فى حالة إنزيمات (CX) , (PG) عن الذى سجل للعزلة (MG2) ولم تظهر فروق معنوية بين كلا من العزلتين المقاومة والحساسة فيما يخص النشاط الانزيمى لإنزيم (PME) .

١٢.بدراسة تأثير اكتساب صفة المقاومة على القدرة المرضية للفطرين محل الدراسة تحت ظروف الصوبة تبين مايلى :

١٢-١- ظهرت فروق كبيرة فى القدرة المرضية بين عزلة الفطرماكروفومينا فاسيولينا الحساسة MG2 وبين العزلة المقاومة (MB1) مما يعنى أن اكتساب صفة المقاومة يؤدى إلى انخفاض القدرة المرضية للفطر ماكروفومينا فاصيولينا .

١٢-٢- لم تظهرفروق ملحوظة فى القدرة المرضية لعزلتى الفطر سكلروشيم رولفزياى سواء الحساسة (SG10) أو المقاومة (SI3) برغم أن كليهما أظهرت قدرة مرضية عالية فى إحداث مرض عفن الجذور فى نباتات الفاصوليا .

سابع عشر : " دراسة تطور المقاومة المكتسبة للمبيدات الفطرية في فطر بيروكيولاريا أوريزى المسبب لمرض اللفحة في الأرز وعلاقتها بالعوامل البيئية "

رسالة مقدمة من الطالبة / مرفت رفعت هلال للحصول على درجة الفلسفة في العلوم البيئية من قسم العلوم الزراعية- معهد الدراسات والبحوث البيئية- جامعة عين شمس عام ١٩٩٩ - تحت إشراف أ٠د٠ مصطفى حلمى مصطفى ، أ٠د٠ سمير عبد العزيز ، أ٠د٠محمد مصطفى .

يعتبر محصول الأرز من المحاصيل الرئيسية فى مصر وعديد من دول العالم كما يعتبر أحد المصادر الرئيسية للدخل القومى فى مصر وتبلغ متوسط المساحة المنزرعة سنوياً فى مصر حوالى مليون فدان .

من أهم الأمراض التى تصيب محصول الأرز مرض اللفحة . تم تسجيل هذا المرض فى عديد من المحافظات وأدى إلى خسائركبيرة على الصنف اليابانى - نهضة - ريهو حيث بلغت هذه الإصابة حوالى ٥ - ٥٠% خاصة على الصنف ريهو .

ومن الطرق المستخدمة للحد من أضرار ذلك المرض استخدام الأصناف المقاومة والمبيدات .

تعد اكتساب الكائنات المرضية لصفة المقاومة للمبيدات الموصى بها من المشاكل الرئيسية فى الآونة الأخيرة حيث تمت دراسة العوامل المؤثرة على تطور المقاومة ودرس قدرة العزلات المختلفة على إحداث الإصابة وعلاقتها بالمقاومة المكتسبة للمبيدات كما درست الصفات المورفولوجية والفسيولوجية للفطر مرتبطة بنموذج للتنبؤ بالمقاومة المكتسبة للمبيدات وعمل استراتيجية لمقاومة المرض .

ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فى هذه الدراسة فيما يلى :

تم جمع ١٩ عزلة من المحافظات المختلفة لمدة ٣ أعوام متتالية وكانت كالتالى :

١- ١٣ عزلة لموسم ١٩٩٣ - مقسمة كالآتى - من محافظة الغربية (٣) عزلة ، (٣) عزلة من الشرقية ، ٧ عزلة من كفر الشيخ الموسم الثانى لعام ١٩٩٥ ، ٣ عزلة من كفر الشيخ الموسم الثالث لعام ١٩٩٦ (١) عزلة من كفر الشيخ ، (١) عزلة من قطور ، (١) عزلة من بسيون .

٢- قدرت مستويات المقاومة للميسيليوم والجراثيم لعزلات الفطر المختلفة حيث تأثرت العزلات بالتركيزات المختلفة للمبيدات الثلاث الهينوزان – فوجى – بيم.

٣- وجد اختلاف معامل المقاومة لعزلات المنطقة الواحدة وكان سخا ١٩٣ = ٦، سخا ٢٩٣ = ٢,٥ ، سخا ٣٩٣ = ١ ، سخا ٤٩٣ = ٢,٣ فى مبيد الفوجى – ون . بينما كانت فى مبيد البيم ١٨٠ ، ٣,٢ ، ٤ ، ٢٣,٥ على التوالى أمافى الهيتوزان كانت ١٢ ، ١,٢ ، ٣,٨ ، ١,١ على التوالى .

٤- كما اختلفت سلوك العزلات من التركيزات المنخفضة إلى التركيزات العالية فى المبيدات المختلفة .

٥- وجد مقاومة متبادلة على التركيزات العالية للهيتوزان والبيم وعلى الوجه الآخر الفوجى والبيم ، كما وجد مقاومة ضعيفة ما بين الهينوزان والفوجى – ون .

٦- كمية العزلة الحساسة جيزة ٩٣١على بيئة مسممة بجرعة منخفضة من المبيد ١٠ جزء فى المليون خلال ٦ أجيال متتالية وجد أنها تزيد بها المقاومة للمبيدات المختلفة .

٧- بتكرار الزراعة للعزلة فلبن ٢٩٣ على بيئة موز غير مسممة ولتأكيد الرأى السابق لوحظ فى حالة مبيد البيم وجد فقد للمقاومة . وعلى ذلك يتواجد تناقض للرأى السابق وذلك نتيجة لتداخل عديد من العوامل أى تواجد عامل أساسى لاكتساب صفة المقاومة لهذا الفطر .

٨- بدراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية نتجت طفرات لمبيد البيم ، الفوجى – ون ولم تنتج طفرات لمبيد الهينوزان . بدراسة تأثير الرطوبة مع اكتساب صفة المقاومة للمبيدات أظهرت الفطر مستوى عالى من المقاومة لمبيد الهينوزان والبيم والفوجى – ون عند ١٠٠% رطوبة وبانخفاض درجات الرطوبة تنخفض المقاومة للمبيدات . بدراسة تأثير درجات الحرارة وارتباطها بالمقاومة المكتسبة شوهد تأثير واضح لمبيد الهينوزان بينما فى مبيد البيم وجد أن المقاومة للعزلات تختلف باختلاف درجات الحرارة ، وهذا واضح

للعزلات المقاومة – متوسطة – الحساسية . كما يتواجد ارتباط موجب بين درجات الحرارة ومستويات المقاومة . على الوجه الآخر وجد ارتباط سالب معتدل مع المقاومة لمبيد الفوجى – ون .

٩- وبدراسة الشكل المورفولوجى مع المقاومة للمبيدات لفطر اللفحة فى محصول الأرز شوهد ارتباط سالب معنوى بين المقاومة للهينوزان مع أعداد الجراثيم. بينما مبيد الفوجى ون شوهد ارتباط سالب معتدل بين أعداد الجراثيم والمقاومة للمبيد . أيضاً شوهد ارتباط ضعيف بين أعداد الجراثيم والمقاومة للبيم .

١٠- وبتقدير نشاط الإنزيم بولى فينيل أوكسيديز للخمس عزلات مع مستويات المقاومة شوهد تأثير واضح للخمس عزلات مع ارتباط واضح لنشاط الإنزيم والمقاومة للمبيدات .

١١- لوحظ ارتباط ضعيف بين نشاط إنزيم بيرواوكسيديز (ميسليوم راشح) مع المقاومة للفوجى – ون والبيم كما يتواجد ارتباط عالى بين نشاط إنزيم بيرو اوكسيديز والمقاومة للهينوزان .

١٢- وبتقدير نشاط إنزيم حمض اسكوربيك مع المقاومة للمبيدات وجد ارتباط ضعيف بين نشاط الإنزيم والمقاومة للهينوزان ولم يوجد أى نشاط ملحوظ بين أنزيم حمض اسكوربيك وأى مبيد آخر .

١٣- سجل ارتباط ضعيف بين نشاط إنزيم بولى جلاكتورينيز (PG) مع المقاومة للفوجى – ون ومبيد البيم ولم يلاحظ أى ارتباط بمبيد الهينوزان .

١٤- وجد ارتباط ضعيف ما بين نشاط PEM (بكتيك ميثيل استيريز) والمقاومة لمبيد الفوجى – ون وأيضاً ارتباط موجب ما بين نشاط الإنزيم ومبيدى البيم والهينوزان .

١٥- لوحظ ارتباط موجب ما بين نشاط إنزيم السلوليز ومبيد الفوجى – ون ولا يتواجد ارتباط ما بين نشاط الإنزيم مع مبيد البيم بينما وجد ارتباط سالب ما بين نشاط إنزيم السلوليز مع مبيد الهينوزان .

١٦- وبدراسة العلاقة ما بين المقاومة المكتسبة للمبيدات مع قدرة الفطر على إحداث الإصابة لوحظ اختلاف لمستوى المقاومة لمبيد الهينوزان مع حدوث الإصابة لثلاث عشرة عزلة كما لوحظ اختلاف شدة الإصابة على الأصناف الآتية : صنف جيزة ١٥٩ حساس جداً للإصابة وجيزة ١٧١ متوسط المقاومة بينما صنف جيزة ١٧٦ كان عالى المقاومة .

١٧- استخدمت النتائج المتحصل عليها لتطوير المعادلة الرياضية للتنبؤ بالمقاومة المكتسبة حيث استخدم برنامج المعادلة الرياضية التى سبق وصفها بواسطة شين ١٩٨٧ وذلك لتطويرها لتتلائم مع فطر اللفحة فى الأرز .

ففى حالة المعاملة الخاصة بشين ١٩٨٧ يجب أن يتم تقدير جميع مكونات المعادلة وحسابها . أما المعادلة التى تم تطويرها فقد وصفت بأقل المجهودات ويمكن إعطاء القرار فى أسرع وقت لهذا الغرض ثم حساب معظم مكونات المعادلة مسبقاً حيث :

١- تم حساب قدرة الطرز المقاومة على إحداث الإصابة بالنسبة للطرز الحساسة وتم استبدال العامل المتغير فى المعادلة بقيم عددية ثابتة موضوع فى الاعتبار قدرة نسبة الطرز المقاومة على إنتاج الجراثيم .

٢- كما تم تقدير عدد الأجيال (٣) من الفطر التى تتعرض للمبيد خلال الموسم تحت الظروف المصرية ، وهذا الرقم أيضاً تم إدخاله فى المعادلة بدلاً من المعامل المتغير وبواسطة المعادلة الجديدة يمكن إعطاء القرار خلال ٢٤ ساعة .

٣- من المعادلات الثلاثة تم الحصول عليها حيث لوحظ أن المقاومة للهينوزان والبيم تنقص بزيادة عدد الأجيال المعرضة للمبيد كما لوحظ أن هذا التناقص أسرع فى حالة البيم عنه فى حالة الهينوزان بعكس المقاومة للفوجى ون حيث يزداد بزيادة عدد الأجيال .

ثامن عشر : "دراسات على المقاومة المستحثة ضد صدأ الساق الأسود فى القمح"

رسالة مقدمة من الطالبة / دعاء راغب محمد عزب النجار للحصول على درجة الماجستير فى العلوم الزراعية (أمراض نبات) من قسم النبات الزراعي – كلية الزراعة جامعة الزقازيق عام ١٩٩٨ تحت إشراف أ٠د٠ محمد رضا أحمد توهامى ، د٠ نبيلة الشريف .

يعتبر محصول القمح من أهم المحاصيل الاستراتيجية فى العالم وبصفة خاصة فى مصر . يزرع القمح فى مساحة ٢,٤٨٣,١٣١ فدان (موسم ١٩٩٦ / ١٩٩٧) انتجت ٥,٨ مليون طن تغطى حوالى ٦٠% من الاستهلاك المحلى . أجريت عدة تجارب تحت ظروف الصوبة والحقل لاستحداث المقاومة ضد مرض صدأ الساق المتسبب عن قطر بكسينيا جرامينيس تحت نوع تريتساى . فى هذه التجارب استخدمت بعض منظمات النمو (الإيثيفون، حمض الجبريليك) أيونات الكوبلت وحمض السالسيليك لدراسة تأثيرها على بعض الصفات الخاصة بقياس شدة المرض لمرض صدأ الساق . أيضاً تم دراسة تحليل التركيب الكيماوى للنباتات المصابة . ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فى هذه الدراسة كما يلى :

١- اختلفت النسبة المئوية التكرارية للسلالات المختلفة لفطر بكسينيا جرامينيس تحت نوع تريتساى من موسم لآخر خلال مواسم ١٩٩٤ ، ١٩٩٥ ، ١٩٩٦ . وبصفة عامة كانت السلالة رقم ١١ تحتل المكانة الأولى فى مواسم ١٩٩٣ / ١٩٩٤ ، ١٩٩٤ / ١٩٩٥ تليها السلالات أرقام ١٧ ، ١٩ ، ٣٩ .

٢- فى تجربة اختبار الأصناف كان الصنف جيزة ١٦٣ متوسط المقاومة بينما كانت الأصناف جيزة ١٥٥ ، ١٦ ، ١٦٢ ، سخا ٩٦ وسخا ٩٢ قابلة للإصابة .

٣- فى تجربة نقع الحبوب كان الايثفون هو أكثر منظمات النمو تأثيراً فى خفض النسبة المئوية لإنبات الجراثيم اليوريدية لفطر بكسينيا جرامينيس تحت نوع تريتساى إلى ٥٤,١٩% يليه أيونات الكوبلت (٧٩,٢٣%) وفى النهاية حمض الجبريليك (٨٣,١٢%) مقارنة بالنباتات المصابة (٩٣,٧%) .

٤- أحدثت جميع التركيزات المستخدمة من منظمات النمو زيادة في متوسط فترة الحضانة من ١٤ يوم في النباتات المصابة إلى ١٤,٦ يوم في النباتات المعاملة بالايثيفون والكوبلت و ١٥ يوم عند استخدام حمض الجبريليك .

٥- سبب كل من الكوبلت وحمض الجبريليك انخفاضا في طراز الإصابة من ٤ إلى ٣,٦ .

٦- حدث انخفاض معنوى في عدد البثرات لكل سم٢ عند استخدام أى تركيز من منظمات النمو مقارنة بالنباتات المصابة غير المعاملة .

٧- في تجربة الرش سبب كل من الايثيفون عند تركيز ١٠٠ ، ١٥٠ جزء في المليون وجميع تركيزات حمض السلسليك المستخدمة رشاً على النباتات بعد ٢٤ ساعة من العدوى تحولاً في طرز الإصابة للنباتات من شديدة القابلية للإصابة إلى متوسطة القابلية للإصابة .

٨- أحدث حمض السلسيليك عند ٧,٥ جزء في المليون رشاً على النباتات تغيراً في طرز الإصابة من شديدة القابلية للإصابة (٤) إلى منيعة (صفر) سواء كان الرش قبل أو بعد العدوى .

٩- زادت فترة الحضانة من ١٤ إلى ١٥ يوم عند استخدام كل من منظمات النمو والكوبلت وحمض السلسيليك رشاً على النباتات قبل أو بعد العدوى بـ ٨ ساعات.

١٠- انخفض متوسط عدد البثرات لكل سم٢ معنوياً عند استخدام كل من منظمات النمو والكوبلت وحمض السلسليك رشاً بعد العدوى ومع ذلك سبب حمض السلسليك والايثفون خفضاً في متوسط عدد البثرات لكل سم٢ سواء استخدما قبل أو بعد العدوى .

١١- زادت فترة الحضانة في أصناف القمح المختبرة جيزة ١٦٠ ، جيزة ١٦٣ وسخا ٩٦ عند نقع بذورها في منظمات النمو والكوبلت مقارنة بالنباتات غير المعاملة.

١٢- أحدثت منظمات النمو والكوبلت تغيراً في طرز الإصابة للصنف جيزة ١٦٠ من شديد القابلية للإصابة إلى متوسط القابلية للإصابة ، جيزة ١٦٣ من متوسط

المقاومة إلى شديد المقاومة فى حين أن الصنف سخا ٩٦ تغيــر مــن متوســط القابلية للإصابة إلى شديد القابلية .

١٣- انخفض عدد البثرات لكل سم٢ على نباتات القمح النامية من بذور سبق نقعها فى منظمات النمو والكوبلت . وكان الانخفاض ٦٧,٦٩% فى الصنف جيزة ١٦٣ ، ٣٥,٠٦% فى الصنف سخا ٩٦ ، ٣٣,٥٦% فى الصنف جيزة ١٦٠ .

١٤- زادت فترة الحضانة ولم يحدث تغير فى طرز الإصابة فى حين انخفض متوسط عدد البثرات لكل سم٢ عند استخدام منظمات النمو والكوبلت كنقع البذور ورش نباتات القمح مقارنة بالنباتات غير المعاملة .

١٥- انخفضت شدة مرض صدأ الساق معنوياً وعدد البثرات وكذا حجم البثــرة عنــد استخدام منظمات النمو والكوبلت فى معاملة النباتات البالغة واختلفت هذه النتائج طبقاً للصنف المختبر ومنظم النمو والتركيز المستخدم .

١٦- أوضحت نتائج تجربة العدوى فى مراحل مختلفة من نمو النبات أن نقع بــذور القمح فى الايثيفون والكوبلت أو رش النباتات بحمض السلسيلك سببت انخفاضــاً معنوياً فى شدة مرض صدأ الساق والمساحة تحت منحنى المرض بالإضافة إلى متوسط عدد البثرات لكل سم٢ فى صنف القمح جيزة ١٦٠ المعدى قبل أو أثناء طور الحمل . وكان حمض السلسيلك أكثر تأثيراً يليه الايثيفون ثم الكوبلت .

١٧- أوضحت نتــائج الحقــل فــى مواســم ١٩٩٣ / ١٩٩٤ ، ١٩٩٤ / ١٩٩٥ أن منظمات النمو والكوبلت سببت خفضاً فى شدة مرض صدأ الساق واحدثت تغيراً فى طراز الإصابة حيث تحولت النباتات متوسطة القابلية للإصابة إلى نباتــات مقاومة .

١٨- زاد عدد الحبوب فى السنبلة ووزن المحصول لكل وحدة تجريبيــة وكــذا وزن القش . ومن ناحية أخرى لم يحدث تغير معنوى فى وزن ١٠٠٠ حبــة نتيجــة لاستخدام منظمات النمو والكوبلت .

١٩- انخفض نشاط إنزيم البولى فينول أوكسيديز والبيروكسيديز فى النباتات المصابة مقارنة بالنباتات السليمة سواء فى الصنف المقاوم (جيــزة ١٦٣) أو الــصنف القابل للإصابة (جيزة ١٦٠) .

٢٠- انخفض نشاط إنزيم البولى فينول أوكسيديز والبيروكسيديز فى النباتات المصابة غير المعاملة بأى من منظمات النمو أو التركيزات المنخفضة منها فى حين أن نشاط هذه الإنزيمات ارتفع فى النباتات المصابة والمعاملة بمنظمات النمو والكوبلت .

٢١- زاد محتوى النباتات من الكلوروفيل أ ، ب وكذا الكاروتينات فى النباتات المعاملة بمنظمات النمو والكوبلت وكان الصنف جيزة ١٦٣ أكثر تأثراً والصنف جيزة ١٦٠ متوسط التأثر فى حين أن الصنف سخا ٦٩ كان أقلهم تأثراً بمنظمات النمو.

٢٢- زادت الفينولات الحرة والكلية والمرتبطة فى النباتات المعاملة بالتركيزات المرتفعة من منظمات النمو والكوبلت مقارنة بالنباتات المصابة وغير المعاملة .

٢٣- قاومت جميع المبيدات المستخدمة مرض صدأ الساق تماماً فيما عدا التركيزات المنخفضة من المبيد كيماز .

٢٤- زاد الكلوروفيل أ ، ب فى النباتات المعاملة بالمبيدات فى حين انخفضت الكاروتينات .

الكتب والمقالات والمشروعات البحثية التى استعنت بها فى إعداد هذا الكتاب

١-	المضادات الحيوية والمقاومات الثلاثة (مكتسبة – مستحثة – حيوية) ودورها فى أمراض النبات
	تأليف : أ.د. محمود موسى أبو عرقوب
	أستاذ أمراض النبات – كلية الزراعة
	أستاذ زائر فى بعض جامعات الدول العربية
	الناشر : المكتبة الأكاديمية – شركة مساهمة مصرية ٢٠٠٢
٢-	" Induced resistance for plant defence "
	A sustainable apprach to crop protection –
	Dale lvalters , Adrian Newton and Gary Lyon

Black-vell publishing , 2007	
" Induced plant resistance toherbivory "	٣-
Andreas schaller	
Springer , 2008	
العديد من المقالات المنشورة على قاعدة المعلومات الدولية (الانترنيت)	٤-
رسائل الماجستير والدكتوراة التى نوقشت وأجيزت فى كليات الزراعة جامعة عين شمس والقاهرة والزقازيق وبنها	٥-
مشروع محول من أكاديمية البحث العلمى والتكنولوجيا فى الخطة الخمسية ٢٠٠٢ / ٢٠٠٧ للباحث الرئيسى أ.د. مصطفى حلمى مصطفى أستاذ أمراض النبات بكلية الزراعة جامعة عين شمس بعنوان : " دراسة فاعلية المستخلصات الطبيعية والبيولوجية فى تنشيط ظاهرة المقاومة الجهازية المكتسبة فى العوائل النباتية ضمن إطار المكافحة المتكاملة للآفات " .	٦-

مصطلحات

A

Abiotic stress	الاجهاد الحيوى
Agriculture	الزراعة
Agrochemicals	الكيميائيات الزراعية
Alkalinization	استجابة الالكلة
Alkaloids	الكالويدز
a- Amylase inhibitor	مثبط الفا – أميليز
Allelochemicals	الليلوكيميكل
Allocation costs	تكاليف التعيين أو التخصيص
Anthoeyanidin synthase	أنثوسيانيدين سينسيز
Antinutritive enzmes	أنزيمات مضادة للتغذية
Appeareney, appearence	الظهور
Arabidopsis defense –related peptides (AtPeps)	الببتيدات المرتبطة بالدفاع في الأرابيدوبسيس
Arginase	أنزيم أرجينيز
Aromatic Volatiles	المواد العطرية المتطايرة
Autotoxicity	تكاليف السمية الذاتية

B

Benzenoid compounds	مركبات بنزينويدز

C

Cacliferin	كالسيفرين
Calcium oxalate	أكسالات الكالسيوم

Callose	الكالوس
Cardenolides	كاردينوليدات
(E) – B – Carpophyllene	(E) – B كاربوفيللين
Cellulose	سليلوز
Chalcon isomerase (CHI)	إنزيم كالكون أيزوميريز (CHI)
Chalcone synthase (CHS)	إنزيم كالكون سينسيز (CHS)
Cinnamate -4- hydroxylase (C4H)	إنزيم سيناميت –٤– هيدروكسيليز (C4H)
Cinnamoyl – CoA Oxidoreduetase (CCR)	إنزيم سينامويل CoA أوكسيدوريدكتيز (CR)
Community structure	تركيب الجماعة
Constitutive resistance	المقاومة التكوينية
Coronatine	كوروناتين
Coronatine – insensitive (COII)	الكوروناتين غير الحساس (COII)
Costs	التكاليف
Coumarate -3- hydroxylase (C3H)	إنزيمات كومارات –٣– هيدروكسيليز (C3H)
4- Coumaroyl – CoA ligase (4CL)	إنزيم ٤– كومارويل – CoA ليجيز (4CL)
Crop protection	وقاية المزروعات
Cuticle	الجليد
Chemical composition	التركيب الكيميائى
Cyanogenic glucosides	الجلوكوسيدات السيانوجينية
Cytochrome P450 dependent monooxygenase	المونواكسجينيز المعتمد على السيتوكروم بى ٤٥٠

D

Defense	الدفاع
Deoxyhypusine synthase (DHS)	إنزيم ديوكسى بيوسين سينسيز (DHS)
Dihydroflavonol , 4- reductase	إنزيم ديهيدروفلافونول -٤- ريدكتاز
Dirgent proteins	البروتينات القابلة للتوجيه

E

Ecological	بيئي
Ecosystem	نظام بيئى
Elicitation studies	دراسات التحفيز
Elicitor	محفز
Environmental stress	الإجهاد البيئى
Essential amino acids	الأحماض الأمينية الضرورية
Ethylene (ET)	إيثلين (ET)
Extrafloral nectar (EFN)	رحيق الأزهار (EFN)

F

(E) - & - farnesene	(E) -& فارنيسين
Fatty acid – amino acid conjugates (FAC)	مقترنات الحمض الدهنى – الأمينى
F – box protein	بروتين إف – بوكس
Feeding guild	طائفة التغذية
Fitness	اللياقة
Flavonoids	الفلافونويدز
Flavonoid 3- hydroxlase	إنزيم فلافوفونويد ٣- هيدروكسيليز

G

Galactolipids	جالاكتوليبيدات
Gene	جين
Genetic	وراثة
Glabrous	عارى – خالى الشعيرات
Glucosinolate	جلوكوسينولات
Grafting	التطعيم
Green leaf volatiles	المواد المتطايرة للأوراق الخضراء

H

Hemolymph	هيموليمف
Homospermidine synthase (HSS)	إنزيم هوموسبيرميدين (HSS)
Host	العائل
Hydrogen peroxide	إيدروجين بيروكسيد
Hydroxyproline – rich systemin glycopeptides (HypSys)	هيدروكسى برولين – جليكوببتيدات الغنية بالسيستمين
Hyperparasitoid	شبيه الطفيل ذات التطفل المتزايد

I

Indole	إندول
Infochemicals	كيميائيات المعلومات
Insect	حشرة
Interaction	التداخل

J

JA - Ile	حمض جسمونيك Ile
Jasmonate ZIM domain proteins (JAZproteins)	بروتين الجسمونات ZIM

Jasmonic acid (JA) or jasmonates	حمض جسمونيك (JA) أو الجسمونات

L

Latex (lattices)	لاتكس
Leaf toughness	خشونة الورقة النباتية
Lectins	لكتينات
Ligning / lignification	اللجننة
Linkage	الرابطة
Linolenic acid	حامض لينولينيك
Lipocalin	ليبوكالين
Lipoxygenase	إنزيم ليبوجينيز
Locomotion	الحركة

M

MAP kinase (MAPK)	إنزيم MPA كينيز (MAPK)
MEROPS database	قاعدة بيانات Merops
Metabolites (metabolism)	نواتج التمثيل (التمثيل)
Methylerythritol phosphate (MEP) pathway	مسار مثيل اريثريتول فوسفات (MEP)
Methyl jasmonate (MeJA)	مثيل جسمونات (Me SA)
Methyl salicilate (Me SA)	ميثيل ساليسيلات (Me SA)
Mevalonic acid (MEV) pathway	مسار حامض ميفالونيك (MEV)
Microarray	الترتيب الدقيق
Mimicry	المحاكاة
Moving – target model	نموذج الهدف المتحرك
Mustard trypsin inhibitor (MTI)	مثبط تربسين الخردل (MII)

Mutant studies	دراسات الطفرية

N

Nectar	رحيق
Nicotne	نيكوتين
Nitric oxide (NO)synthase (NOS)	إنزيم نتريك اكسيد (No) سينسيز
N- recycling pathway	مسار تدوير النتروجين

O

Octadecanoid pathway	مسار أوكتاديكا نويد
Octadecanoid signaling	إشارات أوكتاديكاتويك
Oleoresin	أوليبورانتج
Olfactory assays (or olfactometer)	تحليل الشم (جهاز قياس الشم)
Oligogalacuronides (OGAs)	أوليجوجا لاكورنيويدز
Optimal defense theory	نظرية الدفاع الأمثل
Oviposition	التبويض
Oxophytodienotae reductase (OPR3)	إنزيم أوكسوفيتودينوات ريدكتيز (OPR3)
12- Oxe –phytodienoic acid (OPDA)	حامض ١٢- أوكسو – فيتودينويك
B- Oxidation	الأكسدة – بيتا
Oxylipin signature	بصمة أوكسى ليبين

P

Parasitoid	شبيه الطفيل
Pathogen invasion	غزو الممرض
Perfuming	التعضيد
Periderm	البشرة الخارجية

Periderm development	تطور البشرة الخارجية
Peritrophic membrane	الغشاء حول الغذائى
Pharmacophagy	الالتهام الصيدلانى
Phellogen	فيللوجين
Phenolics	فينولية
Phenotypic plasticity	مرونة فينولية
Phenylalanine ammonia –lyase (PAL)	إنزيم فينيل الانين امونيا – ليبز
Phenylpropanoid pathway (or metabolism)	مسار فينيل بروباتويدز (أو التمثيل)
Phenylpropenes	فينيل بروبينات
Pheromone	فورمون
Phospholipase	إنزيم فوسفوليبيز
Pollination	التلقيح للأزهار
Polypheolic parenchyma cells (PP cells)	خلايا البرانشيمية عديدة الفيتولات (خلايــا PP)
Polyphenol oxidase (PPO)	إنزيم بولى فينول اكسيديز
Post – ingestive defense	دفاع ما بعد التناول
Predator	مفترس
Phenyltransferases	إنزيمات فينيل ترانسفيريزيس
Priming	الإبداء
Prosystemin (proSys)	بروسيتمين (سيستمين أولى)
Proteinase inhibitor	مثبط بروتينيز
Putrescine N –methyl transferase (PMT)	إنزيم بيوتريسين N – ميثيل ترانسفيريز

Pyrrolizidine alkaloids	بيروليزيدين الكالويدز

R

Reproductive output (or success)	مخرجات التناسل (أو النجاح)
Resin	راتنج
Resistance	مقاومة
Resource	المصدر
Ribosome – inactivating proteins (RIPs)	بروتينات غير منشطة للريبوسوم

S

Salicylic acid (or salicylate) (SA)	حامض ساليسليك (أوسا ليسيلات)
Schizogenesis	التوالد بالانفلاق
Scion	طعم
Scotophase	مرحلة الطعم
Seed production	إنتاج البذور
Selection pressure	الضغط الانتخابى
Selective advantage	ميزة الانتخابى
Senecionine	سينكيونين
Senecionine N-Oxgenase	إنزيم سينكيونين – ن – أكسيجينيز
Shikimate pathway	مسار شيكيمات
Sib analysis	تحليل القرابة
Sieve element	عنصر الفرملة
Silica	سيليكا
Spines	أشواك
Stone cells	خلايا حجرية

Suberin	سوبيرين
Supply – side hypothesis	فرضية الامداد الجانبى
Systemic acquired resistance (SAR)	المقاومة الجهازية المكتسبة
Systemic wound signaling (systemic wound response)	الإشارات الجهازيـــة بـــالجرح (اســتجابة جهازية للجرح)
Systemn (Sys)	سيستمين

T

Tannins	تاتينات
Terpene (terpenoids)	تربين (تربيتويدز)
Terpene (or terpenoid) synthases (TPS)	إنزيمات تربين(أوتربينويد)
Terpenoid volatiles	المواد المتطايرة ثربينويدز
Thorns	أشواك
Threonine deaminase (TD)	إنزيم ثريونين دى أمينيز
Tolerance	تحمل
Traumatic resin ducts (TRDs)	قنوات راتنج
Trichome	أشواك
Trophic level	المستوى الغذائى
Trypsin modulating oostatic factor (TMOF)	عامل التربسين المنظم

U

Ubiquitin	يوبيكيوتين (المحدودية)
α & β - Unsaturated carbonyls	الفاوبيتا كربونيل غير المشبع

V

Vascular system	الجهاز الدعائى
Vegetative storage proteins (VSPs)	بروتينات التخزين الخضرى
Volatile aromatic compounds	المركبات العطرية المتطايرة
Volatile terpenes	التربينات المتطايرة
Volatile	متطايرة
Volicitin	فوليسثين

W

Wax	شمع
Wound	جرح

X

Xylem mother cells	خلايا الخشب الأصيلة

* مؤلفات الاستاذ الدكتور/ زيدان هندى عبد الحميد

م	أسم الكتب	سنة
١	مقدمة فى السيطرة على الآفات الحشرية	١٩٩٠
٢	وقاية النبات والأمن الغذائى	١٩٩٥
٣	الافات الحشرية والحيوانية	١٩٩٥
٣	الاتجاهات الحديثة فى المبيدات ومكافحة الحشرات " ٢ جزء"	١٩٩٥
٤	الملوثات الكيميائية	١٩٩٦
٥	تحليل مبيدات الآفات	١٩٩٨
٦	آفات النخيل والتمور فى العالم العربى	١٩٩٩
٧	أنتاج القطن ونظم السيطرة المتكاملة على الآفات	١٩٩٩
٨	السمية البيئية والتفاعلات الحيوية للكيميائيات والمبيدات	١٩٩٩
٩	المكافحة المستنيرة للأمراض النباتية بين الحاضر والمستقبل	٢٠٠٠
١٠	المبيدات الفطرية ومكافحة الأمراض النباتية	٢٠٠٠
١١	أنقلاب الجنس وفقد المناعة بين المبيدات والهرمونات	٢٠٠٠
١٢	فساد الأرض وتدمير الإنسان المبيدات / المخدرات/ الأدوية/ الهندسة الوراثية	٢٠٠٠
١٣	هموم الإنسان والبيئة المبيدات/ الديوكسينات/ الدخان الأسود/ التليفون المحمول	٢٠٠٠
١٤	الموارد المائية والأتساخ بالمبيدات	٢٠٠١
١٥	ترشيد المبيدات فى مكافحة الآفات	٢٠٠١
١٦	السموم النباتية ومكافحة الآفات	٢٠٠١
١٧	التكنولوجيا الحيوية والجزيئية فى مجابهة الافات الزراعية والاجدهادات البيئية	٢٠٠١
١٨	خطورة المبيدات على الصحة والبيئة بين التقويم والتقييم والسيطرة	٢٠٠١
١٩	وبائية التعرض المزمن المبيدات بين الصحة العامة والبيئة	٢٠٠٣
٢٠	مستحضرات وتطبيقات المبيدات بين القديم والحديث	٢٠٠٣
٢١	بكتيريا باسيلليس ثورينجينسيز رائدة المبيدات الحيوية	٢٠٠٣
٢٢	الجاذبات الجنسية "الفورمونات"	٢٠٠٤
٢٣	نسخ وتقليد المبيدات	٢٠٠٤
٢٤	الإدارة المتكاملة لمكافحة آفات نخيل التمر	٢٠٠٥
٢٥	تخليق وتصنيع المبيدات(٢جزء)	٢٠٠٥
٢٦	الإدارة المتكاملة فى مكافحة الأعشاب "الحشائش" الضارة	٢٠٠٥
٢٧	مقاومة الآفات لفعل المبيدات (المشكلة والحلول)	٢٠٠٥
٢٨	أساسيات العلوم البيئية الزراعية " التعليم المفتوح بالمشاركة"	٢٠٠٥

٢٩	التسمم الغذائى والملوثات الكيميائية	٢٠٠٥
٣٠	الأمان النسبى للمبيدات الميكروبية والحيوية	٢٠٠٦-٢٠٠٧
٣١	إدارة التعامل مع التسمم بالمبيدات	٢٠٠٦-٢٠٠٧
٣٢	التأثيرات الصحية والبيئية للمبيدات والغازات فى حرب الخليج	٢٠٠٦-٢٠٠٧
٣٣	المرشد فى مكافحة آفات المنازل والصحة العامة- المبيدات والسرطان فى الأنسان	٢٠٠٦-٢٠٠٧
٣٤	المبيدات الخطر الداهم على الأطفال والرضع والكبار	٢٠٠٧
٣٥	مبيدات التربة الزراعية	٢٠٠٧
٣٦	المختصر الحديث فى علم السموم(التوكسيكولوجى) والمبيدات	٢٠٠٧
٣٧	المبيدات والطاقة	٢٠٠٧
٣٨	مقومات أتخاذ قرار الأدارة المتكاملة للسيطرة على الآفات والمبيدات والأعداء الطبيعية	٢٠٠٨
٣٩	مخاطر المبيدات على الصحة العامة والبيئة	٢٠٠٨
٤٠	كيفية وطرق أحداث فعل المبيدات على الحشرات والنبات والثدييات	٢٠٠٩
٤١	دليل التداول الأمن بين مستخدمى وتجار المبيدات (التشريع والتدريب)	٢٠٠٩
٤٢	تمثيل المبيدات فى الكائنات الحية ودورها فى تحديد الفاعلية والأضرار البيئية والصحية.	٢٠٠٩
٤٣	حماية البيئة " بالمشاركة تعليم المفتوح	٢٠١٠
٤٤	المعالجة الحيوية لعوادم ومخلفات المبيدات من المكونات البيئة	٢٠١٠-٢٠١١
٤٥	غش المبيدات	٢٠١٠-٢٠١١
	* تحت الطبع	
١	تحفيز المقاومة في النباتات ضد هجوم الآفات والأمراض النباتية	
٢	الإدارة المتكاملة لمكافحة الآفات في الزراعات المحمية	
٣	أخلاقيات التعامل مع المبيدات السليمة والمهجورة والمنتهية الصلاحية	
٤	الأخطار الصحية والبيئية للبلاستيك (ببرونات الأطفال)	

رقم الإيداع : ١٦١٤٧ /٢٠١٠



أ.د. زيدان هندى عبد الحميد

* بكالوريوس العلوم الزراعية "حشرات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٣.

* ماجيستير العلوم الزراعية "كيمياء مبيدات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٦.

* دكتوراه فلسفة العلوم الزراعية "مبيدات الآفات" كلية الزراعة جامعة عين شمس ١٩٦٩.

* مدرس فى علوم وقاية النبات ١٩٦٩ - ١٩٧٤ بكلية الزراعة جامعة عين شمس.

* أستاذ مساعد فى علوم وقاية النبات ١٩٧٤ - ١٩٧٩ بكلية زراعة جامعة عين شمس.

* أستاذ فى علوم وقاية النبات ١٩٧٩ وحتى الآن بكلية الزراعة جامعة عين شمس .

* وكيل كلية الزراعة جامعة عين شمس لشئون الدراسات العليا ١٩٩٢ - ١٩٩٨ .

* مستشار علمى لشركة سوميتومو كيميكل اليابانية للمبيدات منذ ١٩٧٨ وحتى الآن فى مصر والدول العربية .

* المشاركة فى معظم المؤتمرات المحلية والعالمية فى مجالات وقاية النبات - كيمياء المبيدات - المكافحة المتكاملة للآفات - المشاكل الخاصة بالتلوث البيئى .

* المشاركة فى العديد من الدورات الخاصة بالتوعية بمخاطر المبيدات والملوثات البيئية الأخرى فى مصر والدول العربية الأخرى .

* الأشتراك فى المشروعات القومية الخاصة بالمكافحة المستنيرة للآفات والتلوث البيئى والمكافحة الحيوية للآفات .

* عضو فى العديد من الجمعيات فى مجالات وقاية النبات والبيولوجية الجزيئية وكيمياء المبيدات والتوكسيكولوجى والمبيدات والتلوث البيئى .

